Aus dem Institut für Klinische Physiologie
der Freien Universität Berlin

Der Elektrolytgehalt im Nierenrindengewebe von intakten und adrenalektomierten Ratten

(Untersuchungen an in vivo Nieren und an isoliert perfundierten Nieren)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Petra Brandt
aus Großmöllen in Pommern

1974

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546512_0006

Aus dem Institut für Klinische Physiologie
der Freien Universität Berlin

Der Elektrolytgehalt im Nierenrinden-gewebe von intakten und adrenalektomierten Ratten

(Untersuchungen an in vivo Nieren und an isoliert perfundierten Nieren)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Petra Brandt
aus Großmöllen in Pommern

Referent: Prof. Dr.med. K. Hierholzer

Korreferent: Prof. Dr.med. E. Gerhards

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Promoviert am: 13. Dezember 1974

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.0	Abkürzungen	1
2.0	Einleitung	2
3.0	Methoden	5
3.1	in vivo-Versuche	5
3.1.1	Versuchstiere	5
3.1.2	Versuchsbedingungen	6
3.1.3	Operatives Vorgehen	6
3.1.3.1	Narkose	6
3.1.3.2	Nierenentnahme	6
3.1.3.3	Schnittechnik	7
3.1.3.4	Mannitinfusion	7
3.1.4	Analytische Methoden + Gewebeaufbereitung	8
3.1.4.1	Trockengewichtsbestimmung	8
3.1.4.2	Gewebeaufbereitung mit Trichloressigsäure	8
3.1.4.3	Mg-, Na-, K-Bestimmung	8
3.1.4.4	Ausbeute (Recoveries)	9
3.2	in vitro-Versuche	9
3.2.1	Versuchstiere	9
3.2.2	Operatives Vorgehen	9
3.2.2.1	Narkose	9
3.2.2.2	Operations- und Perfusionstechnik	10
3.2.2.3	Perfusionslösungen	12
3.2.2.4	Nierenentnahme	14
3.2.2.5	Schnittechnik	14
3.2.2.6	Präparation der Kontrollnieren	16
3.2.3	Analytische Methoden und Gewebeaufbereitung	16
3.2.3.1	Trockengewichtsbestimmung	16
3.2.3.2	Gewebeaufbereitung mit Ultraschall	16
3.2.3.3	Na- und K-Bestimmung	16
3.2.3.4	Ausbeute (Recoveries)	17

Seite

3.3 Methodenvergleich zwischen der Gewebeaufbereitung mit Trichloressigsäure und der mit Ultraschall 17

3.4 Statistische Methoden 17

4.0 Ergebnisse 18

4.1 in vivo-Versuche 18

4.1.1 Trockengewicht der Nierenrinde von intakten und adrenalektomierten Ratten 18

4.1.1.1 in Antidiurese 18

4.1.1.2 in osmotischer Diurese 18

4.1.2 Mg-Konzentration in der Nierenrinde von intakten und adrenalektomierten Ratten 20

4.1.2.1 in Antidiurese 20

4.1.2.2 in osmotischer Diurese 20

4.1.3 Na-Konzentration in der Nierenrinde von intakten und adrenalektomierten Ratten 21

4.1.3.1 in Antidiurese 21

4.1.3.2 in osmotischer Diurese 21

4.1.4 K-Konzentration in der Nierenrinde von intakten und adrenalektomierten Ratten 22

4.1.4.1 in Antidiurese 22

4.1.4.2 in osmotischer Diurese 22

4.2 in vitro-Versuche 25

4.2.1 Trockengewicht der Nierenrinde isoliert perfundierter Nieren 25

4.2.2 Na-Konzentration in der Nierenrinde isoliert perfundierter Nieren 25

4.2.3 K-Konzentration in der Nierenrinde isoliert perfundierter Nieren 27

4.3 Ergebnisse des Methodenvergleichs 29

5.0 Diskussion 30

5.1 Zur Methodik 30

5.2 Zu den Ergebnissen 35

5.2.1 in vivo-Versuche 35

5.2.1.1 Vergleich von intakten Kontrolltieren in Antidiurese und in Mannitdiurese 35

Seite

5.2.1.2 Vergleich von adrenalektomierten Tieren in Antidiurese und in Mannitdiurese 41

5.2.1.3 Vergleich von intakten und adrenalektomierten Tieren in Antidiurese 45

5.2.2 in vitro-Versuche 51

5.2.2.1 Perfusion mit Haemaccelstandardlösung 51

5.2.2.2 Perfusion mit Oxalacetat-Haemaccellösung 58

5.2.2.3 Perfusion mit Succinat-Haemaccellösung 60

5.2.2.4 Perfusion mit Mannit-Haemaccellösung 62

6.0 Zusammenfassung 65

7.0 Übersichtstabellen 67

8.0 Literatur 78

1.0 Abkürzungen

ATP	Adenosintriphosphat
ATPase	Adenosintriphosphatase
AVD	arteriovenöse Differenz
EZF	extrazelluläre Flüssigkeit
EZR	Extrazellulärraum
F.G.	Feuchtgewicht
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
i.v.	intravenös
IZR	Intrazellulärraum
NAD	Nicotinsäureamid- adenin- dinucleotid
NNR	Nebennierenrinde
P/O	Quotient aus umgesetztem Phosphat und verbrauchtem Sauerstoff
TCE	Trichloressigsäure
T.G.	Trockengewicht
US	Ultraschall

2.0 Einleitung

Für die Aufklärung von renalen Transportmechanismen ist die Kenntnis der Elektrolytkonzentrationen des Gewebes und der Verteilung der Elektrolyte auf verschiedene Kompartimente von Bedeutung. Dies gilt vor allem für Natrium und Kalium. Beide Kationen werden in der Niere in verschiedenen Segmenten transportiert, wobei energieverbrauchende, aktive Transportschritte beteiligt sind. Für beide Ionen gilt, daß der renale Transport unter dem Einfluß mineralaktiver Nebennierenrindenhormone steht. Von größter Bedeutung für die Analyse der genannten renalen Transportmechanismen und der Prozesse, die den Hormoneinwirkungen zugrunde liegen, wäre die Kenntnis von intrazellulären Ionenaktivitäten.

Obwohl in letzter Zeit ionenselektive Mikroelektroden entwickelt wurden (Übersicht bei 3), die die Aussicht auf eine direkte Bestimmung von Elektrolytaktivitäten im intrazellulären Raum eröffnen,bereiten solche Messungen zur Zeit an der Niere noch erhebliche methodische Schwierigkeiten. Ihre Aussagekraft für die quantitative Analyse des transtubulären Transportes wird ferner dadurch limitiert, daß in der Niere die extrazelluläre Flüssigkeit keine homogene Phase darstellt. Tubulusflüssigkeit in verschiedenen Nephronabschnitten, peritubuläres Blut und extrazelluläre Flüssigkeit in den interstitiellen Spalten sind durch sehr unterschiedliche Elektrolytkonzentrationen gekennzeichnet. Bis diese Größen im einzelnen direkt gemessen werden können, ist man auf die Analyse von Gewebehomogenaten angewiesen, die Elektrolytsummenwerte erfaßt.

In der folgenden Arbeit haben wir Natrium-, Kalium- und Magnesiumkonzentrationen in Nierenrindenhomogenaten von Ratten untersucht. Die Untersuchungen hatten zwei Ziele:

Erstens sollte geklärt werden, ob eine Abhängigkeit des renalen Wasser- und Elektrolytgehaltes von der Aktivität der Nebennierenrinde besteht (in vivo- Versuche).

Zweitens wollten wir aus den Gewebeelektrolyten Aufschluß über Sauerstoff- oder Substratmangel der isoliert perfundierten Rattenniere erhalten (in vitro- Versuche).

Im ersten Teil der Arbeit wurden Na-,K- und Mg- Konzentrationen in Nierenrindenhomogenaten intakter und adrenalektomierter Ratten ermittelt. Wir wollten dabei zu der seit langem bestehenden Diskussion Stellung nehmen, ob der Ausfall der Nebenniere zu meßbaren Änderungen der Elektrolyte im Cortexgewebe führt und inwieweit diese Änderungen vom Hydratationsgrad der Tiere abhängt (5,15,21,33,40,53). Die in der Literatur mitgeteilten Ergebnisse früherer Messungen von Gewebeelektrolytkonzentrationen haben sehr widersprüchliche Ergebnisse erbracht (1, 5,21,33,42,53). Weiterhin haben wir versucht, die hormonabhängige Transportstörung durch das osmotische Diuretikum Mannit zu verdeutlichen. Unsere Ergebnisse zeigen, daß in Abwesenheit der NNR-Steroide im Cortexgewebe höhere Kalium- und niedrigere Natriumkonzentrationen vorliegen bei nicht signifikant unterschiedlichem Wassergehalt. Das heißt, die hormonabhängige Störung des Ionentransportes führt zu einer Natriumausschwemmung und Kaliumretention. In osmotischer Diurese lagern intakte und adrenalektomierte Tiere Wasser

ins Gewebe ein. Die in Antidiurese erhobenen Elektrolytbefunde zeigen sich auch in osmotischer Diurese.

Im zweiten Teil der Untersuchungen strebten wir an, eine Korrelation zwischen funktionellen und biochemischen Kriterien der isoliert perfundierten Niere und dem Natrium-, Kalium- und Wassergehalt des Cortex zu finden. Hierzu wurden Elektrolyt- und Wassergehalt in Rindenhomogenaten von Rattennieren gemessen, die zuvor mit einer Haemaccel-Elektrolytlösung perfundiert wurden. Durch Zusatz von Substraten zum Perfusat, die oxydative Prozesse beeinflussen, ließ sich die Elektrolytzusammensetzung der Nierenrinde ändern. Es konnte festgestellt werden, daß alle perfundierten Nieren Wasser einlagerten. Gleichzeitig stieg der Natriumgehalt, während der Kaliumgehalt absank.

3.0 Methoden

Die vorliegenden Untersuchungen der Gewebselektrolyte in der Nierenrinde der Ratte lassen sich in zwei Hauptgruppen unterteilen, die sich methodisch in der Nierenentnahmetechnik und in der Gewebeaufbereitung unterscheiden.

A) In vivo-Versuche: Die Nieren wurden den Tieren in vivo entnommen und anschließend analysiert.

B) In vitro-Versuche: Eine Niere wurde vom Tier isoliert, in vitro 15 min perfundiert und anschließend analysiert.

3.1. In vivo-Versuche

3.1.1 Versuchstiere

Wir verwandten 160-260 g schwere männliche Albinoratten (Stamm. Wistar, Mus rattus München und Fritz Winkler 1949), die freien Zugang zu einer Altromin-R Standarddiät (Fa. Altromin, Lage; (Na)= 3,1 g/kg, (K)= 7,7 g/kg) hatten. Als Trinkflüssigkeit erhielten die Tiere Leitungswasser, die adrenalektomierten Tiere 0,9 % NaCl Lösung. Die bilaterale Adrenalektomie erfolgte in Äthernarkose durch beidseitigen Flankenschnitt mindestens 8 Tage vor Versuchsbeginn. Als Maß für die vollständige Nebennierenrindenentfernung galt eine verzögerte Wasserausscheidung nach oraler Wasserbelastung (18, 59). Hierzu erhielten die nüchternen Tiere mit einer Magensonde 5 ml Wasser pro 100 g Körpergewicht injiziert. Durch Wägung des Körpergewichts wurde die Zeit ermittelt, in der 50 % des zugeführten Wassers wieder ausgeschieden waren (t 1/2). Nach vollständiger Adrenalektomie betrug die Halbwertzeit mehr als 120 min.

3.1.2. Versuchsbedingungen

Zwei Tage vor der Entnahme der Nieren erhielten Kontrolltiere und adrenalektomierte Tiere Leitungswasser, in einer weiteren Versuchsserie 0,9 % NaCl-Lösung zu trinken. Am Versuchstag wurden ferner je einer Gruppe intravenös eine Mannitlösung (Fa. Boehringer, Mannheim) infundiert, um eine osmotische Diurese auszulösen.

Es wurden folgende Kombinationen gewählt:

Ratten	Trinkflüssigkeit	i.v.Infusion	Dosierung der Infusion
Kontrollen	Wasser	-	-
Kontrollen	0,9 % NaCl	-	-
Kontrollen	Wasser	20 % Mannit	6 ml/h
Kontrollen	0,9 % NaCl	20 % Mannit	6 ml/h
Adren.Tiere	Wasser	-	-
Adren.Tiere	0,9 % NaCl	-	-
Adren.Tiere	Wasser	20 % Mannit	6 ml/h
Adren.Tiere	0,9 % NaCl	20 % Mannit	6 ml/h

3.1.3. Operatives Vorgehen

3.1.3.1. Narkose:

Die Kontrollratten erhielten 90 mg/kg Körpergewicht des Barbiturates Inaktin(R) (Fa. Promonta, Hamburg) als Einzeldosis intraperitoneal injiziert. Adrenalektomierte Tiere wurden mit der Hälfte der Dosis narkotisiert.

3.1.3.2. Nierenentnahme:

Nach Haut- und Muskelschnitt entlang der Linea alba wurden beide Nieren freigelegt, vom umgebenen Fett- und Bindegewebe getrennt und die Nierenhili erst rechts, dann links

durchschnitten. Die Nieren wurden sofort nacheinander in vivo entnommen und auf Zellstofftupfer für ca. 5 s, dann auf Parafilm (Parafilm "M"(R), American Can Company, Neehah, Wisconsin, USA), gelegt. Während die rechte Niere entkapselt und geschnitten wurde, lag die linke Niere zwischen zwei Parafilmblättchen.

3.1.3.3. Schnittechnik:

Mit einem Skalpell wurden in tangentialer Richtung ca. 1 mm dicke Schnitte von der Nierenrinde angefertigt. Dabei war die Rinden-Mark-Grenze durch die Farbgrenze von braun nach rot mit dem bloßen Auge gut erkennbar. Die Einzelschnitte wurden auf einer Analysenwaage (Fa. Sartorius, Göttingen) gewogen, und ein Teil zur Trockengewichtsbestimmung, der andere zur Elektrolytbestimmung verwandt. Das Gewicht der einzelnen Schnitte schwankte zwischen 20 und 60 mg.

3.1.3.4. Mannitinfusion:

Für die Versuche in osmotischer Diurese wurde den Tieren eine mit Hand ausgezogene Trachealkanüle aus Polyaethylen eingebunden. Anschließend kanülierten wir die rechte Vena jugularis mit einem ebenfalls mit Hand ausgezogenem Polyaethylenkatheter und infundierten über eine Infusionspumpe Unita I (Fa. Braun, Melsungen) eine 20 % Mannitlösung (20 g in 100 ml 0,9 % NaCl Lösung). Die Infusionsrate betrug 6 ml/h. Eine Stunde später, nachdem sich eine starke Diurese entwickelt hatte, was aus dem sichtlich erhöhten Urinfluß erkennbar war, wurden die Nieren wie oben aufgeführt entnommen und geschnitten.

3.1.4 Analytische Methoden und Gewebeaufbereitung

3.1.4.1. Trockengewichtsbestimmung:

Das Gewebe wurde 24 h in Wägegläsern bei 110°C im Trockenschrank über Silikagel getrocknet und nach Abkühlen im trockenen Raum auf Zimmertemperatur gewogen. Die Gewichtskonstanz wurde durch weiteres Trocknen über 24 Stunden kontrolliert.

3.1.4.2. Gewebeaufbereitung mit Trichloressigsäure:

Das Gewebe wurde in Zentrifugengläsern mit 1 ml 100 % Trichloressigsäure (Fa. Merck, Darmstadt) im Wasserbad 60 min lang gekocht. Die Gläser waren mit Aluminiumfolie fest verschlossen, um Flüssigkeitsverluste zu vermeiden. Durch Zugabe von 5 ml kaltem Aqua bidest wurden die Proteine gefällt. Nach Zentrifugieren (20 min lang bei 1500 x g) wurde ein Teil des Überstandes zur Mg-Bestimmung verwandt.

3.1.4.3. Na-, K-, Mg-Bestimmung:

In der restlichen unverdünnten Lösung wurden Na und K in der üblichen Weise mit einem Emissionsflammenphotometer ohne Lithiumzusatz (Fa. Eppendorf, Hamburg) gemessen (s. 3.2.3.3.).

Magnesium wurde mit der Titangelbmethode nach Orange und Rhein (38) gemessen.
Der Reaktionsansatz bestand aus:

1) 1 ml Probe
2) 2 ml Gemisch aus 1 ml Titangelb (Fa. Merck, Darmstadt) (7,5 mg/100 ml)
   1 ml Polyvinylalkohol (Fa. Merck, Darmstadt) (100 mg/100 ml)
3) 1 ml Aqua bidest
4) 1 ml NaOH (15 g/100 ml)

Polyvinylalkohol wurde unter vorsichtigem Schütteln und leichtem Erhitzen aufgelöst. Nach Abkühlen wurde die Lösung filtriert und mit der Titangelblösung gemischt. Dieses Gemisch wurde in einer dunklen Flasche im Kühlschrank aufbewahrt und alle zwei Wochen neu hergestellt.
Die Extinktion des nach Zugabe von NaOH entstandenen roten Farbstoffes wurde bei 546 nm im Eppendorf Photometer gemessen.

3.1.4.4. Ausbeute (Recoveries):

Setzten wir den Gewebeproben 50 µl Elektrolytlösung mit bekannten Na-, K- und Mg-Konzentrationen zu, so ließ sich die Ausbeute in Prozent des Lösungszusatzes ermitteln. Sie betrug für Natrium $100,5 \pm 1,67$ % für Kalium $104,1 \pm 1,94$ % und für Magnesium $99,6 \pm 1,26$ %.

3.2. In vitro-Versuche

3.2.1. Versuchstiere

Für die Gewebeelektrolytuntersuchungen an der in vitro perfundierten Niere verwendeten wir 160-260 g schwere männliche Albinoratten (Wistar Kolonie, Mus rattus), die bis zum Versuchsbeginn freien Zugang zu Leitungswasser und zu einer Altromin-R Standarddiät der gleichen Zusammensetzung hatten, wie unter 3.1.1. beschrieben.

3.2.2. Operatives Vorgehen

3.2.2.1. Narkose:

Die Tiere wurden mit Inaktin(R) (Fa. Promonta, Hamburg) durch einmalige intraperitoneale Injektion (90 mg/kg Körpergewicht) narkotisiert.

3.2.2.2. Operations- und Perfusionstechnik:

Die Präparation und Perfusion der isolierten Nieren[+)] erfolgten nach der in unserem Labor üblichen Methodik (49): Die rechte Niere wurde wie zur Mikropunktion vorbereitet und in einer temperierten Kupferschale immobilisiert. Nach Injektion von 200 IE. Heparin in die Vena femoralis wurde die Niere über eine in die Arteria mesenterica eingebundene Glaskanüle perfundiert, wobei der Übergang von Durchblutung zur Perfusion der Niere kontinuierlich erfolgte. Eine ischämische Phase wurde dadurch völlig vermieden. Es wurde mit einer zellfreien, sterilen Elektrolyt-Haemaccel-Lösung, modifiziert nach Weiss et al. (56) und Nishiitsutsuji-Uwo et al. (36) perfundiert, wobei wir den Gasdruck als treibende Kraft für die Perfusion und für die Äquilibrierung des Perfusats bei 38,5° C benutzen. Der venöse Ausstrom erfolgte frei. Wir perfundierten mit einem konstanten distal der Perfusionskanüle gemessenen Druck von 80 mm Hg. Unmittelbar nach Perfusionsbeginn wurde die Verbindung zwischen Niere und Gefäßstiel einerseits und dem Tier andererseits völlig durchtrennt. In früheren Experimenten (49) konnte gezeigt werden, daß sofort nach Atemstillstand eine starke Vasokonstriktion der Niere auftritt. Diese konnte durch schnelle Durchtrennung aller nervalen Verbindungen zwischen Niere und Tier oder aber durch Gabe von α-Rezeptorenblockern verhindert werden. Abb. 1 gibt die Versuchsanordnung der isoliert perfundierten Rattenniere wieder. Die Perfusionsdauer betrug in den vorliegenden Experimenten, die ausschließlich der Bestimmung von Gewebeelektrolyten dienten, 15 min.

[+)] Sie wurden von Herrn Dr. H.J. Schurek und Herrn Dr. P. Brecht durchgeführt, denen ich hierfür herzlich danke.

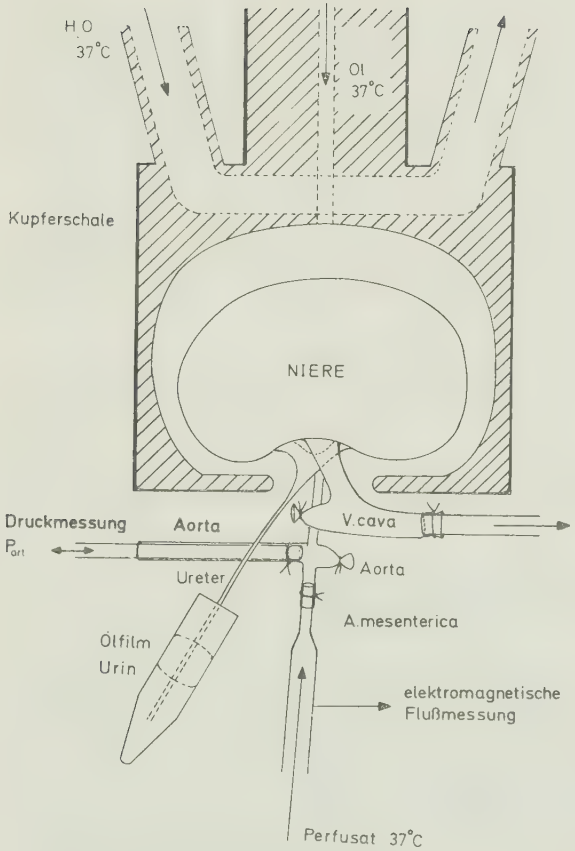

Abb. 1

Versuchsanordnung der isoliert perfundierten Niere nach Schurek (49).

3.2.2.3. Perfusionslösungen

Folgende Perfusionslösungen wurden verwandt:

a) Haemaccelstandardlösung:

Ihre Zusammensetzung ist in Tab. 1 aufgezeigt. Die Perfusionslösungen wurden steril zubereitet. Dies war erforderlich, da mit zunehmendem Alter unsteril bereiteter Lösungen der Perfusionswiderstand der Niere zunahm (29). Deshalb wurde die Haemaccellösung (Fa. Behringwerke, Marburg) durch ein Asbestfilter (Fa. Seitz, Bad Kreuznach; 0,2 µ Porengröße) durch Adsorption von Pyogenen befreit und 20 min lang bei 110°C im Autoclaven sterilisiert. Unmittelbar vor den Perfusionsversuchen wurden die entsprechenden Elektrolytkonzentrate hinzugesetzt.

b) Oxalacetat - Haemaccellösung:

Der Haemaccelstandardlösung wurden 2 mmol/l Oxalacetat (Fa. Boehringer, Mannheim) als Di-Natriumsalz hinzugefügt. Um die Natriumkonzentration konstant zu halten, wurde die Standardlösung um 4 mÄq/l NaCl vermindert.

c) Succinat - Haemaccellösung:

Der Haemaccelstandardlösung wurden 10 mmol/l Di-Natriumsuccinat (Fa. Boehringer, Mannheim) hinzugegeben. Dabei verringerten wir die NaCl-Konzentration der Standardlösung um 20 mÄq/l.

d) Mannit - Haemaccellösung:

Zu der Haemaccelstandardlösung wurden 2 g/100 ml filtriertes Mannit (Fa. Merck, Darmstadt) gegeben, wobei die Osmolalität der Perfusionslösung von 305 mosmol/l auf 420 mosmol/l anstieg.

Tab. 1

Zusammensetzung der Haemaccelstandardlösung.

NaCl	110	mÄq/l
KCl	5	mÄq/l
$CaCl_2$	2	mÄq/l
$NaHCO_3$	25	mÄq/l
MgCl	1,2	mÄq/l
PO_4 (als Na_2 HPO_4 und Na H_2 PO_4)	0,75	mmol/l
Harnstoff	6,0	mmol/l
Glucose	4,0	mmol/l
Haemaccel	35	g/l
Inulin	30	mg/100 ml
ADH (Pitressin^R, Parke Davis, München)	10	mU/l

Osmolarität	305	mosmol/kg H_2O
pH	7,42	
PCO_2	36 - 37	mmHg
PO_2	550 - 600	mmHg

Die gemessene Na-Konzentration in der Perfusionslösung betrug 142,5 - 144 mÄq/l, da die Haemaccel Trockensubstanz 7,5 - 9 mÄq Na pro 35 g Haemaccel enthielt.
Die Meßwerte wurden von Schurek und Brecht erhoben.
Die Osmolalität wurde mit einem Halbmikroosmeter (Fa. Knauer, Berlin), der pH-Wert mit einem Radiometer (Fa. Astrup, Kopenhagen), ermittelt. Die Messungen der Gaspartialdrucke erfolgte über eine O_2-Elektrode (Typ Clark; Fa. Beckman Instruments, München).

beziehungsweise CO_2-Elektrode (Typ Severinghaus; Fa. Beckman Instruments, München).

3.2.2.4. Nierenentnahme:

Nach 15 min Perfusionsdauer wurden die Nieren am Hilus abgeklemmt, vom Gefäßstiel getrennt und sofort in flüssigen Stickstoff getaucht. Dabei vergingen zwischen Abklemmen der Niere und Eintauchen in flüssigen Stickstoff weniger als 2 Sekunden.

3.2.2.5. Schnittechnik:

Die gefrorenen Nieren wurden nach der Methode von R einhardt (44) auf eine kalte Aluminiumplatte gebracht, die in einem Colora Ultrakryostat (Fa. Colora Meßtechnik, Lorch) in eine Methanollösung von $-20^{o}C$ eintauchte. Um Wasserkondensation zu verhindern, wurden die Nieren mit über Silikagel getrockneter Druckluft von $-5^{o}C$ (12-15 l/min) überströmt. Bei dieser Temperatur ließen sich die Nieren mit kaltem Messer schneiden, ohne gleichzeitig aufzutauen. Zunächst wurde unter einem Stereomikroskop (Fa. Leitz, Wetzlar) das noch haftende Fettgewebe und die Nierenkapsel abgeschabt. Dann wurden die Nieren mit dem Skalpell sagittal in zwei Hälften geteilt. Beide Nierenhälften wurden in gefrorenem Zustand mit Hilfe eines Zahnbohrers (Typ 703 C; Fa. Kaltenbach, Biberach) vom Mark her ausgehöhlt, bis eine Nierenrindenschale entstanden war (s.Abb. 2). Als Rinden-Mark-Grenze galten die gut sichtbaren Vasa arcuata (47), die alle mit entfernt wurden. Die Rindenstücke wurden in ca. 50 mg schwere Gewebeproben zerteilt, in Wägegläschen auf einer Analysenwaage (Fa. Sartorius, Göttingen) gewogen und zur Trockengewichts- bzw. Elektrolytbestimmung verwandt.

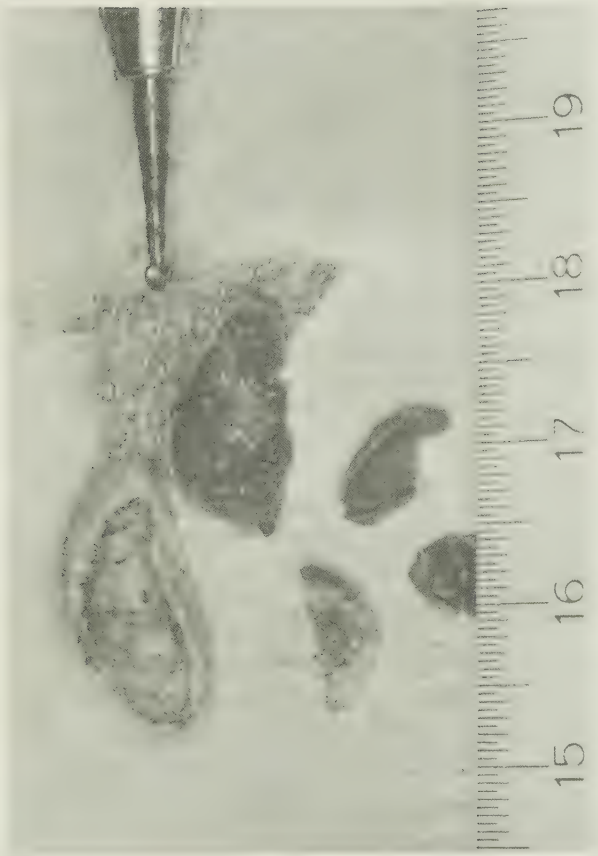

Abb. 2

Gefrorene Nierengewebestücke, die mit Hilfe des abgebildeten Zahnbohrers ausgehöhlt wurden. Die unterste Nierenschale besteht aus reinem Rindengewebe, während die Nierenschale rechts oben noch Markgewebe enthält.

3.2.2.6. Präparation der Kontrollnieren:

Als Kontrollen für die Gewebselektrolytbestimmungen der in vitro perfundierten Nieren galten folgende in vivo entnommenen Nieren:
Nach Haut- und Muskelschnitt wurden beide Nierenhili vorsichtig mit einem Dechamp unterschlungen. Das Darmkonvolut wurde angehoben; daraufhin wurden die Hili mit kleinen gebogenen Kocherklemmen gleichzeitig an der Fadenmarkierung abgeklemmt, an je einer Skalpellklinge vom proximalen Stumpf durch Hochreißen getrennt und aus dem Nierenlager gerissen. Die Nieren wurden sofort in flüssigen Stickstoff getaucht und wie die in vitro Nieren aufgearbeitet.

3.2.3. Analytische Methoden und Gewebeaufarbeitung

3.2.3.1. Trockengewichtsbestimmung:

Das Gewebe wurde 24 h in Wägegläsern bei 110° C im Trockenschrank über Silicagel getrocknet und nach Abkühlen im trockenen Raum auf Zimmertemperatur gewogen. Die Gewichtskonstanz wurde nach einer weiteren 24 Stunden dauernden Trockenperiode kontrolliert.

3.2.3.2. Gewebeaufbereitung mit Ultraschall:

Zu den Gewebeproben wurden 4 ml Aqua bidest in die Wägegläschen gegeben. Jede Probe wurde über einen Schallkopf von 10 mm Durchmesser 3 min lang mit 70 Watt beschallt (Sonifier B 12, Branson Sonic Power Company, Conn./USA). Noch übrigbleibende Stromareste wurden abzentrifugiert.

3.2.3.3. Na- und K-Bestimmungen:

Im unverdünnten Überstand wurden Na und K gemessen, wie unter 3.1.4.3. beschrieben.

3.2.3.4. Ausbeute (Recoveries):

Nach Zusatz von 50 µl Elektrolytlösung bekannter Konzentration zu den Gewebeproben betrug die Ausbeute für Natrium 102,0 $\pm$ 1,58 %, für Kalium 100,9 $\pm$ 2,38 %.

3.3. Methodenvergleich zwischen der Gewebeaufbereitung mit Trichloressigsäure und der mit Ultraschall

Um einen Vergleich zwischen der Gewebeaufarbeitung mit Ultraschall und der Gewebeaufarbeitung mit Trichloressigsäure zu erhalten, haben wir die Natrium- und Kaliumgewebekonzentration an 14 in vivo Nieren gemessen. Diese Nieren wurden entnommen wie unter 3.2.2.6. aufgeführt. Von den gefrorenen Nieren wurden Nierenrindenstücke angefertigt, wie unter 3.2.2.5. beschrieben. Je 1-2 Proben von jeder Niere wurden mit TCE und mit Ultraschall homogenisiert und die Na- und K-Konzentrationen bestimmt.

3.4. Statistische Methoden:

Berechnet wurde der mittlere Fehler des Mittelwertes (S.E.). Die Anzahl der Nierenschnitte einer Gruppe wurde dabei gleich n gesetzt. Signifikanzen wurden nach dem Student-Test ermittelt.

4.0. Ergebnisse

(Die Einzelwerte sind im Anhang tabellarisch aufgeführt; vergl. Tab. I - XI.)

4.1. In vivo-Versuche

4.1.1. Trockengewicht der Nierenrinde von intakten und adrenalektomierten Ratten:

4.1.1.1. In Antidiurese:

Wie in Tab. 2 dargestellt, betrug das Trockengewicht von Nierenrindengewebe intakter Ratten 25 % des Feuchtgewichtes. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,05$) im Gewebe, wenn die Tiere statt Wasser vor dem Versuch Kochsalzlösung getrunken hatten. Adrenalektomie führte zu einer geringen Abnahme des prozentualen Trockengewichtanteils, die jedoch nicht signifikant war ($p > 0,05$ nach Wasser als Trinkflüssigkeit, bzw. $p > 0,1$ nach Kochsalz). Nimmt man an, daß das absolute Trockengewicht des Gewebes durch Trinken von NaCl oder Wasser nicht beeinflußt wird und auch bei adrenalektomierten Tieren gleich bleibt, läßt sich ableiten, daß kein Unterschied im Wassergehalt der Nierenrinde besteht.

4.1.1.2. In osmotischer Diurese:

Aus Tab. 2 ist ersichtlich, daß intravenöse Zufuhr von 20 % Mannitlösung das prozentuale Trockengewicht von Kontrollen und adrenalektomierten Tieren von ca. 25 % F.G. auf ca. 20 % F.G. ($p < 0,001$) reduzierte. Die Nieren lagerten also Wasser ein. Dabei war in osmotischer Diurese das Trockengewicht der Nieren von intakten Tieren, die zuvor 0,9 % NaCl tranken, geringer als von Tieren, die Wasser als Trinkflüssigkeit erhielten ($0,025 > p < 0,05$). Diese

Tabelle 2: Trockengewichtsanteil, Mg-, Na- und K-Konzentrationen im Nierenrindengewebe von intakten und adrenalektomierten Ratten in Antidiurese und osmotischer Diurese.

Tiere	Anzahl d. Tiere	Trinkflüssigkeit	Infusion	T.G. (in % F.G.)	Mg	Na (mÄq/kg F.G.)	K
Kontrolle	5	0,9 % NaCl	-	25,13 ± 0,63	18,55 ± 0,35	70,59 ± 1,91	87,91 ± 1,79
Adrenal.	6	0,9 % NaCl	-	24,34 ± 0,34	19,60 ± 0,40	61,25 ± 1,71	93,81 ± 1,92
Kontrolle	5	Wasser	-	25,96 ± 0,43	18,88 ± 0,35	69,79 ± 1,81	88,91 ± 1,09
Adrenal.	6	Wasser	-	24,74 ± 0,49	19,63 ± 0,53	64,34 ± 1,54	93,08 ± 1,42
Kontrolle	4	0,9 % NaCl	20 % Mannit	18,73 ± 0,71	15,45 ± 0,48	57,05 ± 1,52	65,27 ± 1,07
Adrenal.	4	0,9 % NaCl	20 % Mannit	20,39 ± 0,81	14,99 ± 0,39	46,65 ± 1,36 (52,14 ± 2,27)+)	72,16 ± 0,92
Kontrolle	5	Wasser	20 % Mannit	20,42 ± 0,61	16,64 ± 0,32	59,12 ± 0,82	69,15 ± 1,21
Adrenal.	6	Wasser	20 % Mannit	20,09 ± 0,54	15,26 ± 0,32	48,65 ± 1,26	74,97 ± 1,14

+) Der Natriumwert von adrenalektomierten Tieren in osmotischer Diurese, der in Klammern gesetzt ist, schließt einen Versuch mit ein, bei dem die Na - Konzentration deutlich höher als bei den übrigen Versuchen lag, so daß eine osmotische Diurese offensichtlich nicht ausprägt war.

Signifikanz ist allerdings grenzwertig. Zwischen intakten und adrenalektomierten Tieren ergaben sich in osmotischer Diurese keine signifikanten Unterschiede im Trockengewicht, gleich ob die Tiere Kochsalz oder Wasser erhielten.

4.1.2. Mg-Konzentration in der Nierenrinde von intakten und adrenalektomierten Ratten:

4.1.2.1. In Antidiurese:

Die Mg-Konzentration im Gewebe normaler Ratten lag bei ca. 19 mÄq/kg F.G. (s. Tab. 2). Es ergaben sich in Antidiurese keine differierenden Befunde in Abhängigkeit von der Trinkflüssigkeit. Nach Adrenalektomie waren etwas höhere Mg-Konzentrationen im Cortex nachweisbar, was bei der Gruppe, die NaCl zu trinken bekam, eben noch signifikant waren ($p < 0,05$), in der Gruppe, die Wasser erhielt, aber keine Signifikanz aufwies.

4.1.2.2. In osmotischer Diurese:

Tabelle 2 zeigt, daß nach intravenöser Zufuhr von Mannit die Mg-Konzentrationen um ca. 20 % abfallen, den gleichen Betrag also, um den der H_2O Gehalt der Nierenrinde in osmotischer Diurese zunimmt. Dabei weisen intakte Tiere, die vor dem Versuch NaCl erhielten, etwas geringere Mg-Konzentrationen im Gewebe auf ($p < 0,05$) als Tiere, die Wasser tranken. Dieser Befund korelliert mit dem leicht erhöhten Wassergehalt dieser Nieren, den wir bei der Trockengewichtsbestimmung beobachteten. Bei Ausfall der Nebenniere sahen wir etwas niedrigere Mg-Konzentrationen als bei Kontrollen, die aber nur in der Gruppe, die Wasser erhielt, eben noch signifikant war ($p < 0,05$). Bei adrenalektomierten Tieren ließ sich in osmotischer Diurese ebenso wie in Antidiurese keine Abhängigkeit von der Trinkflüssigkeit nachweisen.

4.1.3. Na - Konzentration in der Nierenrinde von intakten und adrenalektomierten Ratten:

4.1.3.1. In Antidiurese:

Aus Tab. 2 ist ersichtlich, daß Adrenalektomie zu einem deutlichen Abfall der Na-Gewebekonzentration führte. Diese Abnahme war sogar stärker nach NaCl-Substitution ($p < 0,001$) als bei Ratten, die lediglich Wasser vor dem Versuch tranken ($p < 0,025$). Signifikante Unterschiede in der Na - Konzentration in Abhängigkeit von der Trinkflüssigkeit ließen sich allerdings weder bei normalen Kontrollratten noch bei nebenniereninsuffizienten Ratten nachweisen.

4.1.3.2. In osmotischer Diurese:

In osmotischer Diurese war die Na - Konzentration der Nierenrinde um ca. 17 % gegenüber Tieren in Antidiurese reduziert (s. Tab. 2). Die in Antidiurese beobachtete Na-Abnahme adrenalektomierter Ratten blieb auch nach Mannitinfusion deutlich, unabhängig davon, ob die Tiere Kochsalz erhielten ($p < 0,001$) oder Wasser ($p < 0,001$).
In der Gruppe der adrenalektomierten Tiere, die 0,9 % NaCl erhielten, lagen in einem Versuch die Na-Konzentrationen deutlich höher (um 70 mÄq/kg F.G.) als die übrigen Werte der Gruppe. Eine osmotische Diurese war offensichtlich nicht in Gang gekommen. Bezieht man diesen Versuch in den Durchschnitt mit ein, so ergibt sich ein Mittel von 52,14 mÄq/kg F.G. (in Tab. 2 in Klammern gesetzt), das sich von den Kontrollen immer noch unterscheidet ($p < 0,05$).

4.1.4. K-Konzentration in der Nierenrinde von intakten und adrenalektomierten Ratten:

4.1.4.1. In Antidiurese:

Die K-Konzentration von intakten Ratten, die Kochsalz tranken, war ebenso hoch wie von Ratten, die Wasser tranken (s. Tab. 2). Adrenalektomie führte zu signifikant höheren K-Werten im Vergleich zu Kontrollen ($p < 0,025$). Die Trinkflüssigkeit war dabei ohne Einfluß.

4.1.4.2. In osmotischer Diurese:

Mannitinfusion reduzierte die K-Konzentration der Nierenrinde um ca. 20 % bei adrenalektomierten und intakten Tieren. Aus Tab. 2 ist ersichtlich, daß die K-Konzentrationen im Gewebe von intakten Tieren, die NaCl tranken, niedriger waren ($p < 0,025$) als bei Tieren, die Wasser erhielten. Adrenalektomierte Tiere wiesen diese Differenz ebenfalls auf, wenn auch wenig ausgeprägt ($p < 0,05$. Die in Antidiurese schon beobachtete höhere K-Konzentration ($p < 0,001$) adrenalektomierter Tiere wurde nach Mannitinfusion sogar deutlicher gesehen und war von der vorherigen Trinkflüssigkeit unabhängig.

Der Übersichtlichkeit halber sind alle Meßergebnisse, die wir an in vivo entnommenen Nieren gewonnen haben, in Abb. 3 und 4 einander gegenübergestellt. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß nach Adrenalektomie die Gewebekonzentration von Natrium abnimmt, von Kalium zunimmt, Magnesium und Wassergehalt aber keine deutlichen Änderungen aufweisen. In osmotischer Diurese nehmen alle drei Elektrolytkonzentrationen in etwa gleichem Maße ab, wie der Wassergehalt der Nierenrinde zunimmt, und zwar bei Kontrolltieren in gleichem Maße wie bei adrenalektomierten Tieren.

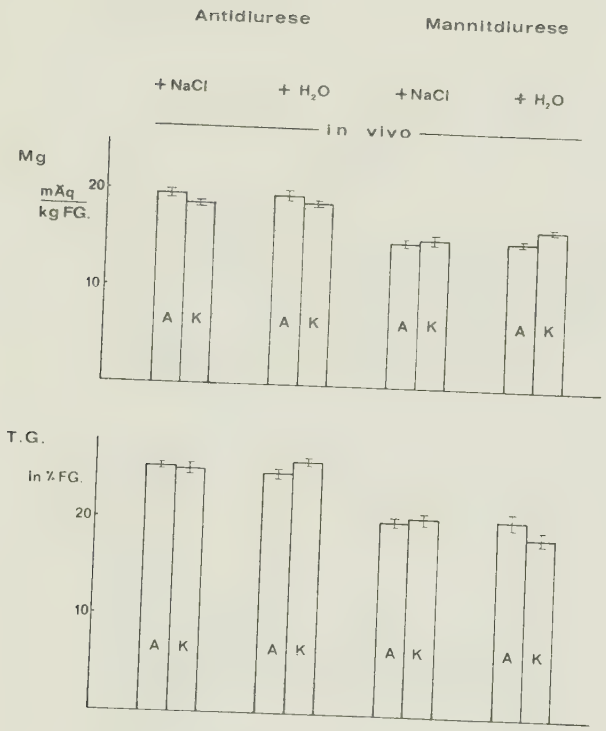

Abb. 3

Mg-Konzentration (in mÄq/kg F.G.) und Trockengewicht (in % F.G.) der Nierenrinde adrenalektomierter und intakter Ratten in Antidiurese und osmotischer Diurese mit 0,9 % NaCl-Lösung bzw. Leitungswasser als Trinkflüssigkeit.

A = adrenalektomierte Tiere;

K = intakte Tiere.

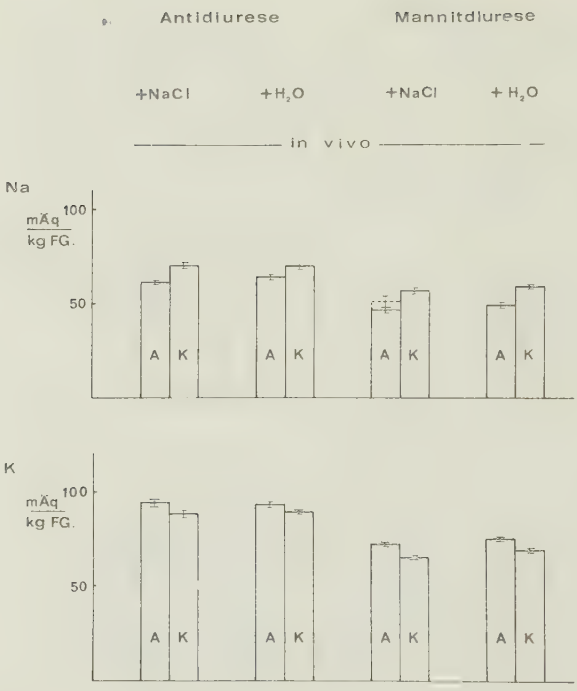

Abb. 4

Na- und K-Konzentrationen (in mÄq/kg F.G.) der Nierenrinde adrenalektomierter und intakter Ratten in Antidiurese und osmotischer Diurese mit 0,9 % NaCl-Lösung bzw. Leitungswasser als Trinkflüssigkeit. A = adrenalektomierte Tiere; K intakte Tiere.

Die gestrichelte Linie schließt einen Versuch mit ein, dessen Na-Konzentration deutlich höher als die der übrigen Versuche liegt, eine osmotische Diurese offensichtlich nicht ausgeprägt war.

4.2. In vitro-Versuche

4.2.1. Trockengewicht der Nierenrinde isoliert perfundierter Nieren:

Wie in Tabelle 3 dargestellt, betrug der Anteil des Trockengewichtes am Feuchtgewicht des Rindengewebes von in vivo Kontrollnieren 20 %. Wurden die Nieren perfundiert, so nahm das prozentuale Trockengewicht signifikant ab ($p < 0,001$). Da anzunehmen ist, daß das absolute Trockengewicht sich im akuten Experiment nicht ändert, ergibt sich, daß die Nieren Wasser ins Gewebe eingelagert haben. Die Wassereinlagerung lag zwischen 16,3 und 24,4 Prozent. Sie war am größten bei den mit Succinatlösung perfundierten Nieren. Allerdings ergaben sich innerhalb der in vitro Gruppe keine signifikanten Differenzen ($p > 0,05$).

4.2.2. Na - Konzentration in der Nierenrinde isoliert perfundierter Nieren:

Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 aufgezeigt. Die Natriumkonzentration von in vivo Kontrollnieren betrug 61 mÄq/kg F.G. Alle in vitro Nieren zeigten eine signifikant höhere Natriumkonzentration ($p < 0,001$). Dabei ergab sich zwischen mit Haemaccelstandardlösung perfundierten und Oxalacetatlösung perfundierten Nieren kein unterschiedlicher Na-Gehalt ($p > 0,05$). Wurde aber Succinat der Perfusionslösung zugesetzt, so lagen die Werte für Natrium signifikant höher ($p < 0,001$) als diejenigen nach Standardperfusion. 2 % Mannit im Perfusat bewirkte im Vergleich zur Standardperfusion einen signifikanten Anstieg der Na-Konzentration in der Nierenrinde ($p < 0,001$), der aber weniger stark war als bei Succinatperfusion.

Tab. 3: Trockengewichtsanteil, Na- und K-Konzentrationen im Rindengewebe von in vitro perfundierten Rattennieren.

	Perfusat	Anzahl d. Tiere	T.G. (in % F.G.)	Na (mÄq/kg F.G.)	K (mÄq/kg F.G.)
in vivo	Blut	7	20,00 ± 0,31	61,39 ± 1,15	68,08 ± 0,82
in vitro	Hämaccel-Standard	5	16,85 ± 0,21	89,33 ± 1,21	44,83 ± 1,20
	+ Oxalacetat	5	17,20 ± 0,24	90,28 ± 0,82	52,64 ± 0,81
	+ Succinat	5	16,24 ± 0,26	110,17 ± 1,38	32,51 ± 1,31
	+ Mannit	5	17,05 ± 0,53	102,72 ± 0,96	43,30 ± 1,05

4.2.3. K-Konzentration in der Nierenrinde isoliert perfundierter Nieren:

Aus Tabelle 3 ist ersichtlich, daß die Kaliumkonzentration im Nierenrindegewebe von perfundierten Nieren im Vergleich zu in vivo-Kontrollen stark abfällt ($p < 0,001$). Den geringsten Abfall sahen wir nach Zusatz von Oxalacetat zum Perfusat, wobei die Werte für Kalium signifikant über denen mit Haemaccel-Standardlösung perfundierten Nieren lagen ($p < 0,001$), im Vergleich zu den in vivo Kontrollen aber noch deutlich erniedrigt waren ($p < 0,001$). Die niedrigsten K-Konzentrationen erhielten wir nach Perfusion mit Succinatlösung, die signifikant unter denen bei Standardperfusion ermittelten Werten lagen ($p < 0,001$). Erhielt das Perfusat 2 % Mannit, so war der Kaliumgehalt der Nierenrinde ebenso hoch wie bei Kontrollperfusionen ($p > 0,1$).

Eine Gegenüberstellung aller an in vitro perfundierten Nieren gewonnenen Gewebeelektrolytmessungen mit den in vivo Ergebnissen zeigt Abb. 5. Sie zeigt, daß die Na-Konzentration in perfundierten Nieren erhöht und die Kalium-Konzentration erniedrigt ist. Gleichzeitig ist der Trockengewichtsanteil bei den in vitro Nieren geringer. Im Vergleich zu den mit Standardlösung perfundierten Nieren führt Oxalacetat zu höheren Kaliumwerten. Durch Succinat wird ein Anstieg der Na-Konzentration und Abfall der K-Konzentration im Gewebe erzielt. Das wichtigste Ergebnis der Mannitversuche ist die Tatsache, daß es zu keiner größeren Flüssigkeitseinlagerung ins Gewebe kommt als bei den anderen in vitro perfundierten Nieren.

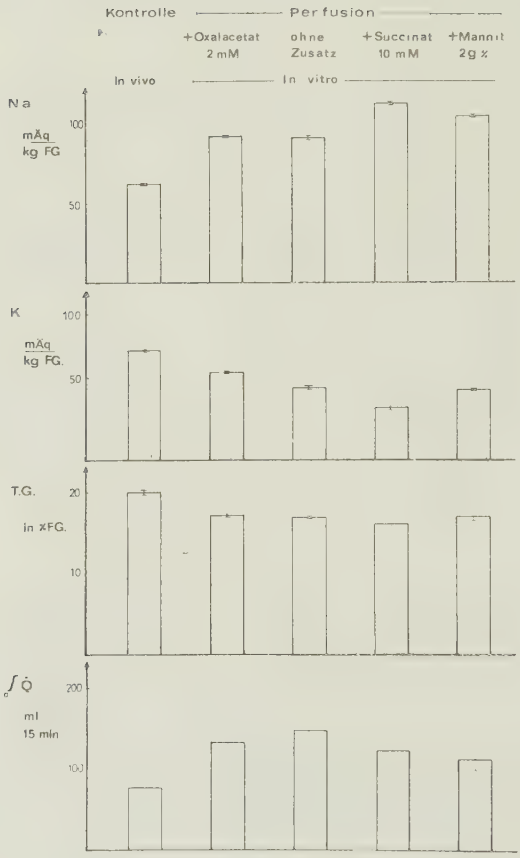

Abb. 7

Na-, K-Konzentrationen (in mÄq/kg F.G.) und Trockengewicht (in % F.G) des Nierenrindengewebes isoliert perfundierter Nieren und deren in vivo Kontrollen. Unten ist die Flowrate $\dot{Q}$ pro g Nierengewicht als Integral über 15 min Perfusionsdauer aufgetragen.

4.3. Ergebnisse des Methodenvergleichs:

An 14 in vivo Nieren wurden Na- und K-Konzentrationen im Rindengewebe gemessen, nachdem ein Teil der Proben mit Trichloressigsäure, ein anderer Teil mit Ultraschall homogenisiert waren. Dabei wurden mit der TCE-Methode eine Na-Konzentration von $65,01 \pm 1,77$ mÄq/kg F.G. ermittelt (n = 27) und eine K-Konzentration von $70,66 \pm 1,56$ mÄq/kg F.G. (n = 27). Erfolgte die Gewebeaufbereitung mit Ultraschall, so betrug der Na-Gehalt $61,39 \pm 1,15$ mÄq/kg F.G. (n = 22), der K-Gehalt $68,08 \pm 0,82$ mÄq/kg F.G. (n = 22). Mit der TCE-Methode erzielten wir also jeweils höhere Werte, wobei auffällig ist, daß die Standardabweichung wesentlich größer ist als bei der Ultraschall-Methode.

5.0. Diskussion:

5.1. Zur Methodik:

Wir haben in der vorliegenden Arbeit für die in vivo Versuche und für die Versuche an der isoliert perfundierten Niere unterschiedliche Methoden der Nierenentnahme, der Schnittechnik und der Gewebehomogenisierung angewandt. Zunächst benutzten wir die allgemein übliche Methodik, wobei die frisch entnommenen Nieren mit einem Messer feucht geschnitten wurden, und die Schnitte durch Kochen mit Säure aufgeschlossen wurden. Bei der Aufarbeitung von isoliert perfundierten Nieren erwies sich dieses Vorgehen als schwierig, da diese Nieren während der Perfusion stark Flüssigkeit einlagerten. Würden wir dieses feuchte Gewebe frisch mit einem Skalpell schneiden, so wäre der unkontrollierbare Flüssigkeitsverlust während der Manipulation wesentlich größer gegenüber den relativ festen in vivo Nieren in Antidiurese. Ein Vergleich zwischen in vivo und in vitro Nieren wäre damit wegen der zu großen Fehlerquelle unmöglich. Deshalb wurde in dieser zweiten Versuchsserie das Verfahren nach Reinhardt (44) benutzt, wobei die Gewebeproben von Nieren in gefrorenem Zustand gewonnen wurden.

Tab. 4

Vergleich verschiedener Aufarbeitungsmethoden in bezug auf Trockengewicht, Na- und K- Konzentrationen im Nierenrindengewebe.

Kontroll-gruppe	Schnitt-technik	Homogenisation	T.G. (in % F.G.)	Na (mÄq/kg F.G.)	K
a	Naßschnitt	Kochen mit TCE	$26,0 \pm 0,43$	$69,8 \pm 1,81$	$88,9 \pm 1,09$
b	Gefrier-schnitt	Kochen mit TCE	$20,0 \pm 0,31$	$65,0 \pm 1,77$	$70,7 \pm 1,56$
c	Gefrier-schnitt	Ultraschall	$20,0 \pm 0,31$	$61,4 \pm 1,15$	$68,1 \pm 0,82$
% Abweichung:					
$(\frac{a}{c} - 1) \times 100$			+ 30 %	+ 14 %	+ 30 %
$(\frac{b}{c} - 1) \times 100$			0 %	+ 6 %	+ 4 %

Unsere Versuche erbrachten somit drei Gruppen von Kontrollnieren, die sich methodisch unterscheiden:

a) Naßschnitt, Kochen mit Trichloressigsäure
b) Gefrierschnitt, Kochen mit Trichloressigsäure
c) Gefrierschnitt, Ultraschallhomogenisation

Entsprechend den methodischen Unterschieden differieren auch die Ergebnisse, so daß wir die methodisch bedingten Unterschiede der einzelnen experimentellen Schritte quantitativ erfassen können:
Aus Tabelle 4 ist ersichtlich, daß der H_2O-Gehalt von frisch geschnittenen Nieren um 30 % geringer ist als bei Rindenschnitten gefrorener Nieren. Es muß also zu einem H_2O-Verlust durch die Schnittechnik kommen, und zwar vom Zeitpunkt der Nierenentnahme bis zum Zeitpunkt der Wägung der Schnitte. Hierbei wäre zunächst an eine Wasserabgabe an die Außenluft durch Verdunstung zu denken. Außerdem könnte Gewebeflüssigkeit durch die Manipulation des Entkapselns und Schneidens an die Instrumente und an die Unterlage der Nieren verlorengehen.
Dem 30prozentigen Verlust an H_2O geht eine Konzentrationserhöhung von Kalium um 30 % parallel, während die Na-Konzentration nur um 14 % zunimmt. D.h. der Kaliumbestand bleibt unverändert, gleich, ob man die Nieren feucht oder gefroren schneidet. Dagegen gehen 16 % Na während des Naßschnitts verloren. Wir können daraus ableiten, daß der Flüssigkeitsverlust extrazellulär ist, da kein Kaliumdefizit auftritt.

Im Vergleich zwischen der Gewebeaufarbeitung mit Trichloressigsäure und der Aufarbeitung mit Ultraschall zeigen sich nach TCE höhere Na- und K- Konzentrationen im Rindengewebe als nach Ultraschallhomogenisation. Diesen Unterschied führen wir auf einen geringgradigen H_2O- Verlust durch Kondensation während des Kochens mit TCE zurück. Die Alternative, nämlich ein Elektrolytverlust durch unzureichendes Zerstören der Zellmembranen mit Ultraschall,würde eher zu einem K- als zu einem Na- Defizit führen. Wie aus Tab. 4 hervorgeht, haben wir jedoch eine Differenz in der Na- Konzentration von 6 % und in der K- Konzentration von 4 % vorliegen. Es ist deshalb anzunehmen, daß die mit der Ultraschallmethode gemessenen Werte die genaueren sind. Hierfür spricht auch der kleinere Fehler des Mittelwertes.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß bei der Feuchtschnitt-Technik 30 % Wasser verlorengehen, davon 16 % durch Eintrocknung und 14 % durch Verlust an EZF. Außerdem werden mit der TCE- Methode absolut zu hohe Na- und K- Gewebekonzentrationen gemessen, da ca. 5 % H_2O während des Kochens verdampfen. Auf Grund dieser Befunde sind wir im zweiten Teil unserer Untersuchungen dazu übergegangen, nur noch die Gefrierschnittechnik und die Ultraschallhomogenisation anzuwenden, die wir für die genauere Methode halten. Da in der Literatur die meisten Gewebeelektrolytuntersuchungen an Naßschnittgewebeproben vorgenommen wurden, lassen sich die differierenden Ergebnisse der verschiedenen Autoren zum Teil auf die schwer kontrollierbaren, methodisch bedingten Flüssigkeitsverluste zurückführen (s. Tab. 5).

Tab. 5

Literaturübersicht von Wasser-, Natrium- und Kaliumkonzentrationen im Nierenrindengewebe intakter und adrenalektomierter Ratten.

Autor		Kontr.	Adren.	Kontr.	Adren.	Kontr.	Adren.
		H_2O (% F.G.)		Na (mÄq/kg F.G.)		K (mÄq/kg F.G.)	
Auditore 1956	(1) ++++)	70,3	70,5	-	-	82,0	93,1
Peters 1959	(40) ++)	76,3	77,0	-	-	-	-
Crabbe 1960	(5) +++)	76,0	70,7	65,0	72,0	89,0	85,0
Platts 1963	(42) ++)	76,6	76,4	66,3	68,4	73,4	72,0
Kessler 1964	(21) +)	75,1	73,5	69,0	64,9	-	-
Mariani 1965	(33) ++)	74,3	74,9	66,7	67,0	-	-
Sigler 1965	(53) +++)	74,5	75,5	65,6	63,4	76,0	82,3
Brandt 1974	++)	74,9	75,7	70,6	61,3	87,9	93,8
Brandt 1974	++++)	74,0	75,3	69,8	64,3	88,9	93,1

+) 0,3 % NaCl als Trinkflüssigkeit

++) 0,9 % NaCl als Trinkflüssigkeit

+++) 1,0 % NaCl als Trinkflüssigkeit

++++) H_2O als Trinkflüssigkeit

5.2 Zu den Ergebnissen:

Ziel dieser Untersuchungen war es, den Elektrolytgehalt von Nierenrindenhomogenaten unter in vivo und in vitro Bedingungen zu prüfen. Es wurde einmal der Einfluß der Adrenalektomie auf den H_2O-, Na-, K- und Mg-Gehalt der Nierenrinde untersucht. Außerdem wurden Na-, K und H_2O in Nierenrindenhomogenaten der in vitro perfundierten Niere und unter Oxalacetat-, Succinat- und Mannitzusatz zum Perfusat bestimmt.
Wir haben unsere Ergebnisse in einer Weise graphisch dargestellt, die es erlaubt, Änderungen von H_2O- und Elektrolytkonzentrationen den Änderungen der Elektrolytmengen im Gewebe gegenüberzustellen (s. Abb. 6).

5.2.1 In vivo-Versuche

5.2.1.1. Vergleich von intakten Kontrolltieren in Antidiurese und in Mannitdiurese

Der Wassergehalt und die Na-Konzentration im kortikalen Gewebe der von uns untersuchten intakten Ratten entspricht den bisher in der Literatur veröffentlichten Werten. Dies ergibt eine Gegenüberstellung der in der Tab. 5 aufgeführten experimentellen Daten, die Arbeiten entnommen sind, in welchen intakte und adrenalektomierte Ratten miteinander verglichen wurden. Ähnliche Untersuchungen liegen von Rabito et al. (43) vor, die Na- und K-Konzentrationen in Cortexschnitten adrenalektomierter und aldosteronsubstituierter adrenalektomierter Ratten gemessen haben. Während die Na-Konzentration im Vergleich zu den hormonsubstituierten Nieren nach Nebennierenrindenextirpation anstieg, ergaben sich für Kalium und für den Wassergehalt keine Änderungen. Diese Ergebnisse wurden in Tab. 5 nicht aufgeführt, da sie in mÄq/kg T.G. angegeben sind und deshalb mit den Befunden der

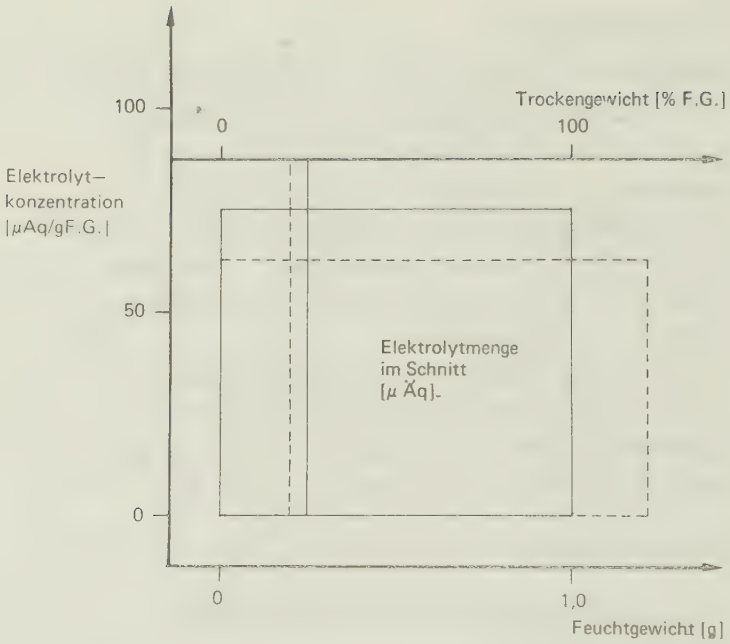

Abb. 6

Darstellung der Ergebnisse von Elektrolytbestimmungen im Nierenrindengewebe.

Auf der Abszisse ist das Feuchtgewicht der Schnitte in g aufgetragen, wobei das Rindengewebe der Kontrollnieren in Antidiurese gleich 1 g gesetzt wurde und Änderungen des Feuchtgewichtes bei verschiedenen Funktionszuständen (gestrichelt angegeben) aus dem Verhältnis des Trockengewichtes der Kontrollnieren zum Trockengewicht der Vergleichsnieren errechnet wurden. Die Ordinate zeigt die gemessenen Elektrolytkonzentrationen in uÄq/g F.G. an.

Ferner ist auf der Abszisse (oben angegeben) das Trockengewicht in Prozent des Feuchtgewichtes aufgetragen. Es ist mit einem durchgehenden vertikalen Strich markiert. Die Werte für die Kontrollnieren ergeben das durchgezogene Rechteck, die der Vergleichsnieren das gestrichelte Rechteck. Die Rechtecke geben die Elektrolytmenge im Schnitt in uÄq wieder.

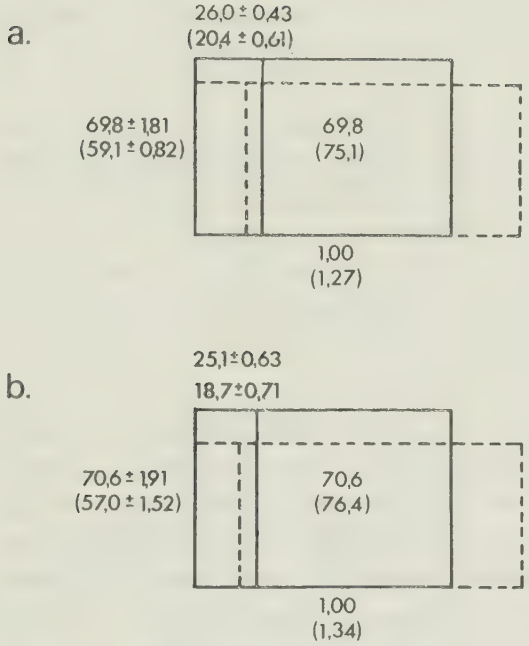

Abb. 7

Gegenüberstellung der Na-Konzentrationen und Na-Mengen von Nieren in Antidiurese und Nieren in osmotischer Diurese:

a) Tiere mit H_2O als Trinkflüssigkeit

b) Tiere mit 0,9 % NaCl als Trinkflüssigkeit.

Die Darstellung erfolgte wie in der Legende von Abb. 6 ausführlich beschrieben. Die Ergebnisse in Antidiurese wurden mit einer durchgehenden Linie, die in osmotischer Diurese mit einer gestrichelten Linie markiert. Die für die osmotische Diurese gewonnenen Werte wurden in Klammern gesetzt.

Die Meßwerte der Na-Konzentrationen und die Trockengewichte wurden der Tab. 2 entnommen.

der übrigen Autoren nicht vergleichbar sind. Bei unseren Versuchen spielte es keine Rolle, ob die intakten Kontrolltiere mit Wasser oder mit Kochsalzlösung vorbereitet worden waren.
Wie die in Abb. 7 enthaltene Gegenüberstellung ergibt, nahm in osmotischer, durch Mannit ausgelöster Diurese das Nierengewicht zu, und zwar um 27 % bei wasservorbehandelten Tieren und um 34 % bei Tieren nach Kochsalzgabe. Da man voraussetzen kann, daß die Festsubstanz der Nieren während der akuten Experimente konstant bleibt, sind die gemessenen Gewichtsänderungen in der osmotischen Diurese durch eine Flüssigkeitszunahme bedingt.

Die Gesamt-Na-Konzentration nahm bei wasser- und kochsalzbehandelten Tieren ab, die im Nierenrindengewebe enthaltene Natriummenge dagegen war deutlich erhöht. Daraus läßt sich ableiten, daß in osmotischer Diurese der Anteil an extrazellulärer Flüssigkeit zunimmt, was mit der Beobachtung stark erweiteter Tubuli in Nierenpunktionsexperimenten übereinstimmt. Da die EZF in diesem experimentellen Fall außer Na das osmotisch aktive Mannit enthält, sank die Gesamt-Na-Konzentration ab.

Die Annahme einer extrazellulären Flüssigkeitszunahme in der osmotischen Diurese wird auch durch die hier erhobenen Kaliumbefunde bestätigt (s. Abb. 8). Zunächst ergibt sich auch hier, daß die Werte in den Streubereich der in der Literatur mitgeteilten Daten fallen. Bei beiden Gruppen von Kontrolltieren sank wie erwartet die Gesamt-Kaliumkonzentration der Gewebe ab, während die im Gewebe vorhandene K-Menge praktisch unverändert blieb.

Magnesium, welches vorwiegend intrazellulär lokalisiert ist, zeigte grundsätzlich das gleiche Verhalten wie Kalium (Abb. 9). Die bei wasser- und kochsalzvorbehandelten Tieren gemessenen Gewebskonzentrationen sanken unter osmotischer Diurese ab, während sich der Gewebegehalt nicht deutlich änderte. Bei beiden Tiergruppen war lediglich eine geringe Tendenz zur Magnesiumzunahme zu verzeichnen.

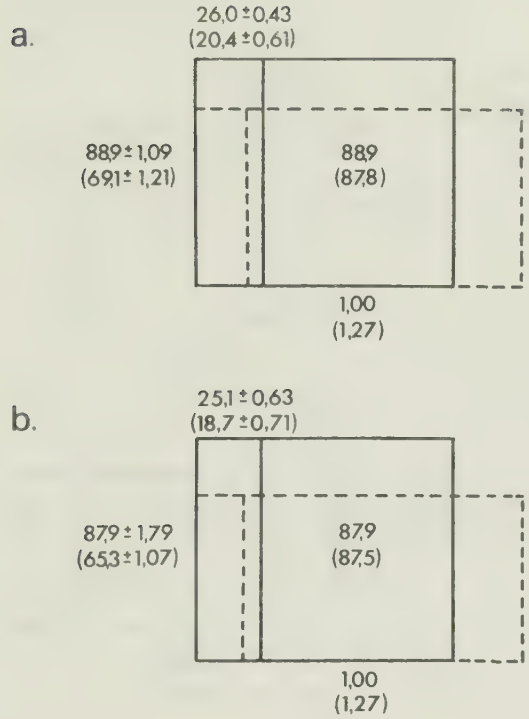

Abb. 8

Gegenüberstellung der K-Konzentrationen und K-Mengen von Nieren in Antidiurese und Nieren in osmotischer Diurese:

a) Tiere mit H_2O als Trinkflüssigkeit

b) Tiere mit 0,9 % NaCl als Trinkflüssigkeit.

Die Darstellung erfolgte wie in der Legende von Abb. 6 ausführlich beschrieben. Die Ergebnisse in Antidiurese wurden mit einer durchgehenden Linie, die in osmotischer Diurese mit einer gestrichelten Linie markiert.

Die für die osmotische Diurese gewonnenen Werte wurden in Klammern gesetzt.

Die Meßwerte der K-Konzentrationen und die Trockengewichte wurden der Tab. 2 entnommen.

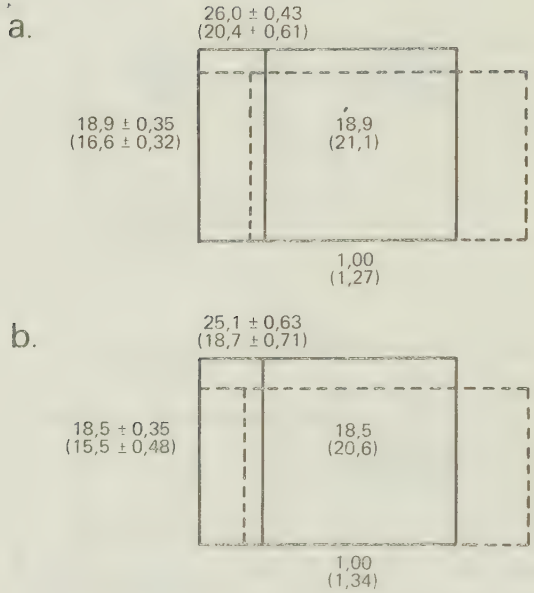

Abb. 9

Gegenüberstellung der Mg-Konzentrationen und Mg-Mengen von Nieren in Antidiurese und Nieren in osmotischer Diurese:
a) Tiere mit H_2O als Trinkflüssigkeit.
b) Tiere mit 0,9% NaCl als Trinkflüssigkeit.
Die Darstellung erfolgte wie in der Legende auf Abb. 6 ausführlich beschrieben. In dieser Abb. wurde der Maßstab der Ordinate im Vergleich zu den Na- und K-Darstellungen 4:1 vergrößert, da die Mg-Konzentrationen niedriger lagen. Die Ergebnisse in Antidiurese wurden mit einer durchgehenden Linie markiert. Die für die osmotische Diurese gewonnenen Werte wurden in Klammern gesetzt. Die Meßwerte der Mg-Konzentrationen und die Trockengewichte wurden der Tab. 2 entnommen.

5.2.1 2. Vergleich von adrenalektomierten Tieren in Antidiurese und in Mannitdiurese

Untersucht man die gleichen Bedingungen bei adrenalektomierten Tieren, so erhält man die in Abb. 10 dargestellten Werte. Wie bei den Kontrollgruppen kommt es unter Mannit zu einer Zunahme des Gehaltes an extrazellulärer Flüssigkeit mit der erwarteten Abnahme von Na-, K- und Magnesiumkonzentration der Rindengewebsproben.

Im Gegensatz zu Kontrolltieren, bei denen, wie oben beschrieben, die Na-Menge unter osmotischer Diurese angestiegen war, sank sie bei adrenalektomierten Ratten ab, und zwar sowohl bei wasser- als auch bei kochsalz-behandelten Tieren. Diese Verminderung des Natriumgehaltes kann nicht durch die bei der Nebennierenrindeninsuffizienz auftretenden Abnahme der extrazellulären Natriumkonzentration erklärt werden, weil diese bei NaCl-substituierten Tieren fehlt oder nur sehr gering ausgebildet ist. In unseren Untersuchungen entsprach jedoch die prozentuale Abnahme des Natriumgehaltes bei dieser Tiergruppe derjenigen von wasserbehandelten Tieren. Da sich bei wasserbehandelten adrenalektomierten Tieren auch die prozentuale Flüssigkeitseinlagerung nicht von Kontrollen unterschied und die vorwiegend intrazellulär lokalisierte Kaliummenge praktisch gleich blieb, ist anzunehmen, daß die Abnahme des Gewebenatriumgehaltes in der osmotischen Diurese durch einen Auswascheffekt zustandekommt. Dieser könnte vor allem dadurch bedingt sein, daß Natrium-Ionen aus den Interzellulärspalten zwischen den Zellen in die Tubulusflüssigkeit zurückfließen oder aber in geringer Menge in die Interzellulärspalten hineintransportiert werden.

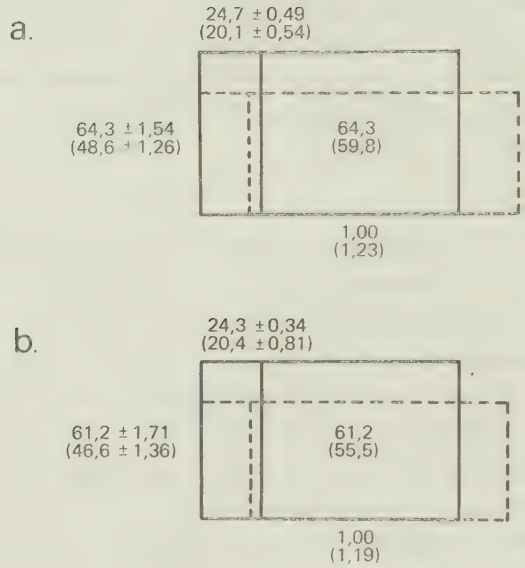

Abb. 10

Gegenüberstellung der Na-Konzentrationen und Na-Mengen von Nieren adrenalektomierter Tiere in Antidiurese und in osmotischer Diurese:

a) Tiere mit H_2O als Trinkflüssigkeit.

b) Tiere mit 0,9% NaCl als Trinkflüssigkeit.

Die Darstellung erfolgte wie in der Legende von Abb. 6 ausführlich beschrieben. Die Ergebnisse in Antidiurese wurden mit einer durchgehenden Linie, die in osmotischer Diurese mit einer gestrichelten Linie markiert. Die für die osmotische Diurese gewonnenen Werte wurden in Klammern gesetzt. Die Meßwerte der Na-Konzentrationen und die Trockengewichte wurden der Tab. 2 entnommen.

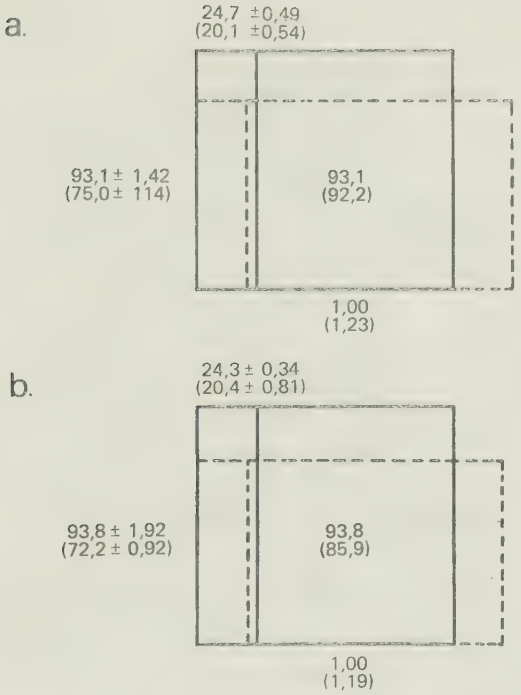

Abb. 11

Gegenüberstellung der K-Konzentrationen und K-Mengen von Nieren adrenalektomierter Tiere in Antidiurese und in osmotischer Diurese:

a) Tiere mit H_2O als Trinkflüssigkeit.

b) Tiere mit 0,9% NaCl als Trinkflüssigkeit.

Die Darstellung erfolgte wie in der Legende von Abb. 6 ausführlich beschrieben. Die Ergebnisse in Antidiurese wurden mit einer durchgehenden Linie, die in osmotischer Diurese mit einer gestrichelten Linie markiert. Die für die osmotische Diurese gewonnenen Werte wurden in Klammern gesetzt. Die Meßwerte der K-Konzentrationen und die Trockengewichte wurden der Tab. 2 entnommen.

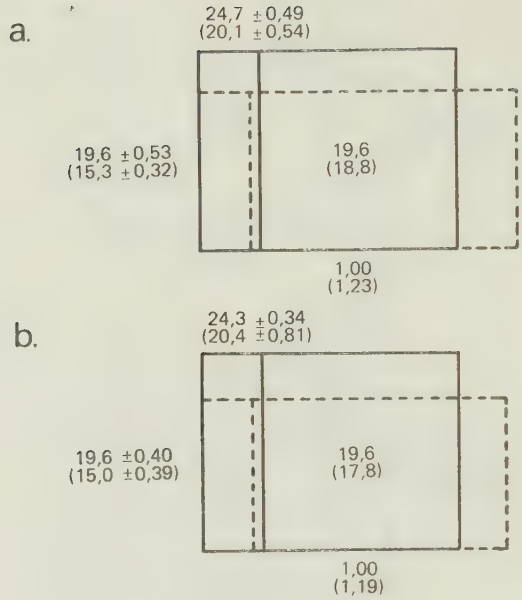

Abb. 12

Gegenüberstellung der Mg-Konzentrationen und Mg-Mengen von Nieren adrenalektomierter Tiere in Antidiurese und in osmotischer Diurese:

a) Tiere mit H_2O als Trinkflüssigkeit

b) Tiere mit 0,9 % NaCl als Trinkflüssigkeit.

Die Darstellung erfolgte wie in der Legende von Abb. 6 ausführlich beschrieben. In dieser Abb. wurde der Maßstab der Ordinate im Vergleich zu den Na- und K-Darstellungen 4:1 vergrößert, da die Mg-Konzentrationen niedriger lagen. Die Ergebnisse in Antidiurese wurden mit einer durchgehenden Linie, die in osmotischer Diurese mit einer gestrichelten Linie markiert. Die für die osmotische Diurese gewonnenen Werte wurden in Klammern gesetzt. Die Meßwerte der Mg-Konzentrationen und die Trockengewichte wurden der Tab. 2 entnommen.

Vergleicht man NaCl-substituierte adrenalektomierte Ratten in Antidiurese und Mannitdiurese, so zeigt sich hier im Gegensatz zu den wasservorbehandelten Tieren eine Abnahme des K-Gehaltes im Gewebe, der der Abnahme des Na-Gehaltes parallel geht. Dieser Verlust muß aus dem intrazellulären Raum erfolgen. Warum er nur bei den salzbehandelten Tieren auftritt, kann auf Grund von Gewebsanalysen nicht entschieden werden. Auch die Magnesiumanalysen ergaben Befunde, die qualitativ den Kaliumwerten entsprechen. Sie sind quantitativ weniger ausgeprägt (s.Abb. 12).

5.2.1.3. Vergleich von intakten und adrenalektomierten Tieren in Antidiurese

Dieser Vergleich ist deshalb problematischer, weil wir hier Tiere in unterschiedlichen chronischen stationären Zuständen vergleichen, die durch verschiedene Körpergewichte und verschiedene Nierengewichte gekennzeichnet sind. Aus der Abb.13 geht jedoch hervor, daß intakte und adrenalektomierte Ratten etwa den gleichen Trockengewichtsanteil aufweisen, so daß wir es für gerechtfertigt halten, die Gewebselektrolytkonzentration und -mengen in analoger Weise wie oben zu vergleichen.

Signifikant ist eine Abnahme der Natriumkonzentration, die bei wasserbehandelten und bei NaCl-substituierten Rattennieren in Erscheinung trat und von einer signifikanten Zunahme der Kaliumkonzentration begleitet war. Qualitativ verhielten sich die Elektrolytmengen des Nierenrindengewebes wie die Konzentrationen. Lediglich die Magnesiumanalysen ergaben praktisch unveränderte Werte und zeigten im Hinblick auf die im Gewebe enthaltene Magnesiummenge qualitativ die gleiche Tendenz, wie sie bei Kalium beobachtet worden ist.

Wie sich aus den in Tab. 5 dargestellten Werten ergibt, sind die in der Literatur mitgeteilten Ergebnisse widersprüchlich;

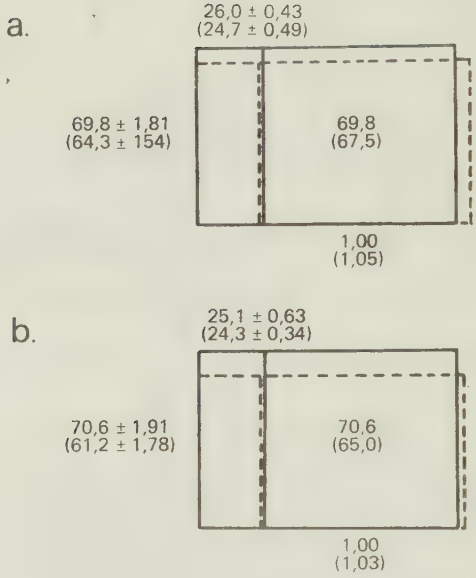

Abb. 13

Gegenüberstellung der Na-Konzentrationen und -Mengen von Nieren intakter Tiere und Nieren adrenalektomierter Tiere in Antidiurese:

a) Tiere mit H_2O als Trinkflüssigkeit

b) Tiere mit 0,9% NaCl als Trinkflüssigkeit.

Die Darstellungsweise erfolgte unter dem im Text beschriebenen Vorbehalt analog den Gegenüberstellungen von Nieren in Antidiurese, wie in der Legende von Abb. 6 ausführlich beschrieben. Die Ergebnisse der intakten Ratten wurden mit einer durchgehenden Linie, die der adrenalektomierten Ratten mit einer gestrichelten Linie gekennzeichnet. Die Werte der adrenalektomierten Ratten wurden in Klammern angegeben. Die Meßwerte der Na-Konzentrationen und die Trockengewichte wurden Tab. 2 entnommen.

es finden sich bei adrenalektomierten Tieren sowohl unveränderte als auch erhöhte bzw. erniedrigte Na- und K-Konzentrationen. Für Magnesium liegen in der Literatur unseres Wissens noch keine vergleichbaren Messungen vor. Geht man davon aus,daß mineralaktive NNR-Hormone den aktiven Na- und den aktiven K-Transport an Zellmembranen fördern (6,11,13,39,41,52), so wäre zu erwarten, daß in der NNR-Insuffizienz Natrium vermehrt in den intrazellulären Raum hineinläuft, und Kalium aus den Zellen austritt. Solche Veränderungen sind tatsächlich am Lebergewebe (7,8,30) gemessen worden; allerdings ergaben gleichzeitige Messungen an der Muskulatur ein davon abweichendes Verhalten. Die intrazelluläre Na- und K-Konzentration war nicht signifikant verändert. An der Niere kann aus den in der Einleitung genannten Gründen aus Rindengewebsanalysen nicht direkt auf intrazelluläre Ionenkonzentrationen und auf unterschiedliche Verteilungen der Elektrolyte in den verschiedenen Kompartimenten geschlossen werden. Direkte Hinweise auf Änderungen der intrazellulären K-Aktivität wurden bisher lediglich von Wiederholt et al. (60) mitgeteilt. Diese Autoren benutzten eine K-selektive Ionenaustauscher-Mikroelektrode und bestimmten intrazelluläre K-Aktivitäten in distalen Tubuluszellen. Bei adrenalektomierten Ratten fanden sie eine effektive Konzentration von 39.1 ± 1.4 mMol/l, die signifikant niedriger war, als der bei Kontrollen gemessene Wert von 47.2 ± 1.8 mMol/l. Bei der vergleichenden Wertung dieser Befunde ist jedoch zu bemerken, daß die distalen Tubuluszellen nur einen sehr geringen Anteil am Gesamtvolumen der Nierenrinde ausmacht.

Aus den in Abb. 14 enthaltenen Gegenüberstellungen läßt sich deshalb lediglich folgern, daß wir aus unseren Befunden keinen direkten Hinweis auf eine generelle Zunahme der intrazellulären Na-Konzentration und keinen Hinweis auf eine generelle K-Verarmung der Zellen in der Nierenrinde ableiten können. Dies gilt vor allem für die Gruppe der NaCl-substituierten adrenalektomierten Tiere, bei denen vermutlich die extrazelluläre Natriumkonzentration nur gering vermindert war.

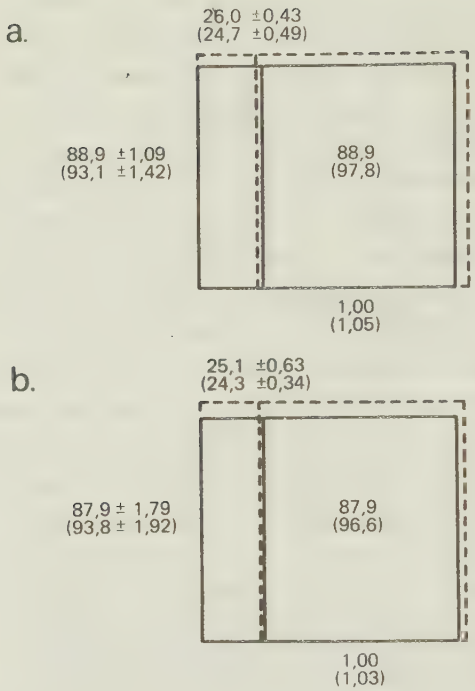

Abb. 14:

Gegenüberstellung der K-Konzentrationen und -Mengen von Nieren intakter Tiere und Nieren adrenalektomierter Tiere in Antidiurese:

a) Tiere mit H_2O als Trinkflüssigkeit.

b) Tiere mit 0,9 % NaCl als Trinkflüssigkeit.

Die Darstellungsweise erfolgte unter dem im Text beschriebenen Vorbehalt analog den Gegenüberstellungen von Nieren in Antidiurese, wie in der Legende von Abb. 6 ausführlich beschrieben. Die Ergebnisse der intakten Ratten wurden mit einer durchgehenden Linie, die der adrenalektomierten Ratten mit einer gestrichelten Linie gekennzeichnet. Die Werte der adrenalektomierten Ratten wurden in Klammern angegeben. Die Meßwerte der K-Konzentrationen und die Trockengewichte wurden Tab. 2 entnommen.

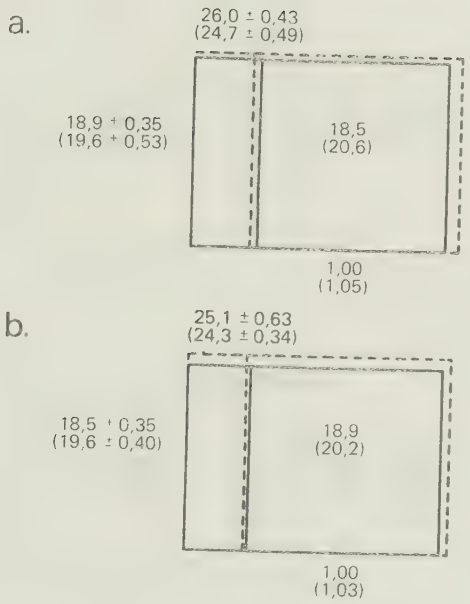

Abb. 15:

Gegenüberstellung der Mg-Konzentrationen und -Mengen von Nieren intakter Tiere und Nieren adrenalektomierter Tiere in Antidiurese:

a) Tiere mit H_2O als Trinkflüssigkeit

b) Tiere mit 0,9 % NaCl als Trinkflüssigkeit

Die Darstellungsweise erfolgte unter dem im Text beschriebenen Vorbehalt analog den Gegenüberstellungen von Nieren in Antidiurese, wie in der Legende von Abb. 6 ausführlich beschrieben. In dieser Abb. wurde der Maßstab der Ordinate im Vergleich zu den Na- und K-Darstellungen 4:1 vergrößert, da die Mg-Konzentrationen niedriger lagen. Die Ergebnisse der intakten Ratten wurden mit einer durchgehenden Linie gekennzeichnet. Die Werte der adrenalektomierten Ratten wurden in Klammer angegeben. Die Meßwerte der Mg-Konzentrationen und die Trockengewichte wurden Tab. 2 entnommen.

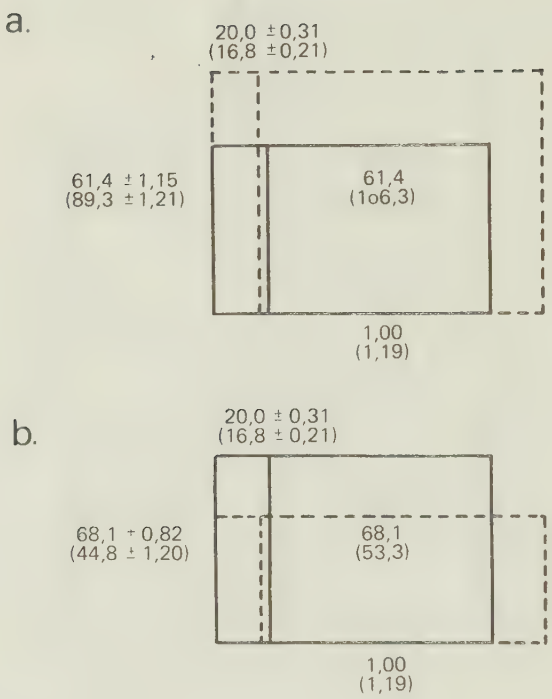

Abb. 16:

Gegenüberstellung der Elektrolytkonzentrationen und -mengen von in vivo Nieren und isolierten Nieren, die mit Haemaccel-standardlösung perfundiert wurden:

Die Darstellung erfolgte wie in der Legende von Abb. 6 ausführlich beschrieben.

a) Natrium b) Kalium

Die Zahlen in Klammern und die gestrichelten Linien zeigen die Ergebnisse der perfundierten Nieren. Die Meßwerte der Elektrolyte und die Trockengewichte sind die in Tab. 3 aufgeführten Werte.

5.2.2. In vitro-Versuche

5.2.2.1. Perfusion mit Haemaccel-Standardlösung

Vergleicht man die Ergebnisse, die wir nach 15 min Perfusion in vitro erhielten, mit denen von blutdurchströmten Kontrollnieren, so erhält man die in Abb. 16 dargestellten Unterschiede. Zunächst fällt auf, daß die mit Standardlösung perfundierten Nieren eine Gewichtszunahme aufwiesen, die durch eine Vermehrung des Flüssigkeitsgehaltes bedingt ist.

Gleichzeitig trat eine Zunahme der Natriumkonzentration des Rindengewebes und ein Anstieg des Gesamtnatriumgehaltes in Erscheinung. Die Kaliumkonzentration und der Kaliumgehalt der mit Haemaccel-Standardlösung perfundierten Nieren war dagegen im Vergleich zu Kontrollnieren stark vermindert.

Qualitativ gleichartige Elektrolytverschiebungen finden sich nach Inkubation von Nierenschnitten, deren Zellmetabolismus gehemmt ist zum Beispiel durch Kälte (45) oder Sauerstoffmangel (46), durch Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung mit Dinitrophenol (35), durch Hemmung der ATP Bildung mit Oligomycin (24)oder Hemmung der ATPase durch Strophanthin (61) und Ethacrynsäure (58). Dabei ist der Sauerstoffverbrauch der Zellen vermindert. Von Eigler (9) wurden Messungen der Kaliumkonzentration der Nierenrinde mit Tyrodelösung perfundierter Hundenieren vorgenommen. Der Autor sah dabei eine Abhängigkeit des Kaliumgehaltes von der Perfusionsdauer, wobei die K-Konzentration mit zunehmender Perfusionsdauer abnahm. Die bei einer Perfusionszeit von 15 min gewonnenen Ergebnisse entsprachen unseren mit Haemaccel-Standardlösung perfundierten Nieren, allerdings war der Streubereich der Werte groß. Der verminderte Kaliumgehalt im Gewebe ist bei Eigler sicherlich zum Teil auch dadurch zu erklären, daß er seine Perfusionen bei 10° C vornahm.

Unterstellt man, daß der in Abb. 16 dargestellte Anstieg der Gewebenatriumkonzentration und des Natriumgehaltes lediglich durch Einlagerung von extrazellulärer Flüssigkeit bedingt ist, so errechnet sich eine Natriumkonzentration dieser eingelagerten Flüssigkeit von 237 mÄq/l. Da die Perfusionslösung aber eine wesentlich niedrigere Natriumkonzentration aufwies, läßt sich ableiten, daß die beobachtete Zunahme des im Gewebe vorhandenen Natriums nach Standardperfusion nicht allein durch Expansion des EZR erklärt werden kann. Es ist zu berücksichtigen, daß ein direkter Vergleich des Elektrolytgehaltes isoliert perfundierter Nieren mit in vivo-Kontrollnieren gewisse Schwierigkeiten bereitet, da die isolierten Nieren mit einem zellfreien Perfusat durchströmt wurden. In der Perfusionslösung fehlten also die Blutzellen mit ihrem charakteristischen vom Plasma abweichenden Elektrolytgehalt. Ersetzen wir ein Erythrozytenvolumen von 6,3 % des Feuchtgewichts der Nierenrinde (12) durch extrazelluläre Flüssigkeit mit den Elektrolytkonzentrationen unserer Perfusionslösung, so erhalten wir durch den folgenden Rechengang Werte, die für den Vergleich zwischen in vivo- und in vitro- Nieren besser geeignet sind:

Die in 1 kg Nierenrinde enthaltene Gesamtnatriummenge der in vivo- Niere (mit einem Erythrozytenanteil von 6,3 % des Feuchtgewichtes) betrug in unseren Messungen 61,4 mÄq. Setzt man wie Peters (40) die intrazelluläre Natriumkonzentration in den Erythrozyten gleich 18,2 mÄq pro Liter Erythrozyten und die von Kalium gleich 101,3 mÄq/l, so läßt sich der oben genannte Wert auftrennen in die Na-Menge im Erythrozytenvolumen und die Na-Menge im Rest (Gewebe + Plasma).

a) Na im Gesamterythrozytenvolumen:

$$Na_{Ery} = 0,063 \text{ kg} \cdot 18,2 \text{ mÄq/l}$$
$$= 1,14 \text{ mÄq}$$

b) Na im Rest (Gewebe + Plasma)

$$Na_{Rest} = 61,4 \text{ mÄq} - 1,14$$
$$60,48 \text{ mÄq}$$

Denkt man sich das Erythrozytenvolumen ersetzt durch ein gleiches Volumen von 63 ml Perfusat mit einer Na-Konzentration von 143 mÄq/l und einer K-Konzentration von 5 mÄq/l, so würde sich die Menge im Gewebe erhöhen um (0,063 . 143) - (0,063 . 18,2) = 7,9 mÄq. Die Gesamtmenge des so korrigierten Natriums in 1 kg perfusatdurchströmten Rindengewebes wäre demnach 61,4 mÄq + 7,86 mÄq, womit zugleich die Konzentration von 69,26 mÄq/kg gegeben ist.

Geht man von einem Blutanteil im Rindengewebe der Ratte von 23 % aus (25), und nimmt einen Hämatokrit von 44 % an, so ergeben sich Werte für Natrium von 73,9 mÄq/kg. Der tatsächlich gemessene Na-Gehalt der in vitro perfundierten Niere betrug jedoch 89,3 mÄq/kg und ist damit deutlich höher als der um den Erythrozytenanteil korrigierten Na-Wert von 73,9 mÄq/kg. Wir können daraus schließen, daß die beobachtete Zunahme der Na-Konzentration des in vitro perfundierten Nierenrindengewebes durch zusätzliche Einlagerung von Natrium, vermutlich von EZF, bedingt ist.

Analog zu der Erythrozytenkorrektur der in vivo-Nieren für Natrium haben wir die korrigierten Werte für Kalium berechnet. Bei Annahme eines Erythrozytenvolumens von 6,3 % beträgt die K-Konzentration des perfusatdurchströmten Rindengewebes 62,9 mÄq/kg, bei einem Blutanteil von 23 % und einem Hämatokrit von 44 % würde sie 58,5 mÄq/kg betragen. Beide berechneten Werte liegen aber erheblich höher als die tatsächlich gemessenen K-Konzentrationen der in vitro perfundierten Niere mit 44,8 mÄq/kg. Der K-Verlust der perfundierten Niere im Vergleich zur in vivo-Niere kann also nicht allein durch die fehlenden Blutzellen erklärt werden. Die Erythrozytenkorrekturen zeigten uns bei Natrium sowie auch bei Kalium, daß der Anstieg der Natriumgewebekonzentration und der Abfall der Kaliumgewebekonzentration nur zum Teil durch das Fehlen der Blutzellen im Perfusat und deren intrazellulären Ionengehalt bedingt ist, zum anderen Teil

Tab. 6: Vergleich der um den intrazellulären Elektrolytgehaltes der Erythrozyten korrigierten in vivo-Nieren mit den um die EZF-Einlagerung korrigierten in vitro perfundierten Nieren. Gegenüberstellung der Na-Anreicherung im Gewebe und des K-Verlustes.

Natrium	I in vivo unkorr.	II in vitro unkorr.	III II - I	IV in vivo Korr. f. Ery. 6,3%	V II - IV	VI in vivo Korr. f. Ery. 10%	VII II -VI	VIII EZF-Einlag.	IX III-VIII	X V-VIII	XI VII-VIII
Stand. perf.	61,4	106,3	44,9	69,3	37,0	73,9	32,4	0,19·143	17,6	9,7	5,1
Oxalacetat	61,4	104,7	43,3	69,3	35,4	73,9	30,8	0,16·143	20,4	12,5	7,9
Succinat	61,4	135,5	74,1	69,3	66,2	73,9	61,6	0,23·143	41,2	33,3	28,7
Mannit	61,4	120,2	58,8	69,3	50,9	73,9	46,3	0,17·143	34,5	26,6	22,0

Fortsetzung Tab. 6:

Kalium	XII in vivo unkorr.	XIII in vitro unkorr.	XIV XIII-XII	XV in vivo Korr.f. Ery.6,3%	XVI XIII-XV	XVII in vivo Korr.f. Ery.10%	XVIII XIII-XVII	XIX EZF-Einlag.	XX XIII-XIX	XXI XVI-XIX	XXII XVIII-XIX
Stand.perf.	68,1	53,3	-14,8	62,0	-8,7	58,5	-5,2	0,19·5	-15,6	-9,6	-6,1
Oxalacetat	68,1	61,1	-7,0	62,0	-0,9	58,5	+2,6	0,16·5	-7,8	-1,8	+1,8
Succinat	68,1	40,0	-28,1	62,0	-22,0	58,5	-18,5	0,23·5	-29,3	-23,2	-19,7
Mannit	68,1	50,7	-17,4	62,0	-11,3	58,5	-7,8	0,17·5	-18,3	-12,2	-8,7

durch Einlagerung von extrazellulärer und tubulärer Flüssigkeit. Diese Einlagerung kommt vermutlich durch eine Filtration von Kolloid und die dadurch bedingte intratubuläre Viskositätszunahme zustande. Daß aber zusätzlich noch eine Ionenumverteilung zwischen IZR und EZR stattfindet, läßt sich durch folgende Rechnung belegen:

Wie in der Tab. 6 aufgezeigt, beträgt die Differenz zwischen dem Gewebenatrium der mit Haemaccel-Standardlösung perfundierten Niere und dem um die Erythrozyten korrigierten Natriumgehalt der in vivo-Niere 37,0 mÄq (bei 6,3 % Erythrozytenvolumen) (V). Eine Einlagerung von 0,19 l Flüssigkeit pro kg Nierenrinde mit den Ionenkonzentrationen unserer Perfusionslösung würde eine Zunahme des Gewebenatriums der korrigierten in vivo-Niere um 27,3 mÄq (VIII) und des Gewebekaliums um 0,8 mÄq (XIX) verursachen. Die Differenz, also 9,7 mÄq Na (X), läßt sich nicht durch Expansion des EZR erklären. Auffällig ist, daß gleichzeitig 8,7 mÄq Kalium (XVI) aus dem Gewebe verloren gehen. Dies ist die Differenz zwischen dem Gewebekalium der korrigierten in vivo-Niere und dem Gewebekalium der mit Standardlösung perfundierten Niere. Unter Berücksichtigung der durch EZF-Einlagerung hinzugekommenen 0,8 mÄq K (XIX) sind es sogar 9,6 mÄq Kaliumverlust (XXI). Dies läßt auf einen Austausch zwischen Natrium und Kalium schließen. Aus Tab. 6 ist ebenfalls ersichtlich, daß die Größe des angenommenen Erythrozytenvolumens für diese Folgerung unerheblich ist, da bei einem Erythrozytenanteil von 10 % und selbst bei den unkorrigierten Werten ebenso viel Na ins Gewebe eingelagert wird, wie K verloren geht. Das heißt, intrazelluläres Kalium wird durch Natrium ersetzt, was auf eine energetische Insuffizienz der perfundierten Nieren hindeutet.

Wahrscheinlich ist hierfür eine Hemmung der aktiven Transportprozesse verantwortlich. Da der aktive Natriumtransport in der Niere an der Niere an der peritubulären Zellmembran erfolgt (14), steigt die intrazelluläre Na-Konzentration an, was sich in den vorliegenden Untersuchungen in einer Zunahme der Na-Gewebekonzentration äußert. Die Transporthemmung könnte im Prinzip

durch O_2-Mangel oder durch Substratmangel bedingt sein. Für eine Transporthemmung der isolierten Niere infolge Substratmangel spricht, daß bei erhöhten Filtrationsraten, das heißt bei größerer Transportbelastung, die % Natriumresorption sehr schnell abfällt (49) und durch Angebot von Substraten wie Glukose, Acetat und Fettsäuren verbessert werden kann (48, 50).

Die zweite Möglichkeit, nämlich ein Sauerstoffmangel der Zellen während der Perfusion als Ursache der verminderten Transportleistung kann in unserer Untersuchung nicht ausgeschlossen werden. Leichtweiss et al. (28) haben in der isoliert perfundierten Rattenniere auch bei hohen Flußraten lokal erniedrigte O_2-Drucke gemessen, die eine Sauerstoffmangelsituation als denkbar erscheinen lassen, insbesondere bei erhöhtem O_2-Bedarf. Bei unseren Nieren ist eine derartige Gewebeanoxie besonders während der Succinatperfusion zu erwarten, da hierbei der P/O Quotient vermindert ist. Dagegen ist bei anderen Substraten (Glucose, Glutamat, Laktat, Oxalacetat und Pyruvat) der Na-Transport höher als bei Kontrollen und dies bei höherer O_2-Aufnahme (51). Dies weist darauf hin, daß die isoliert perfundierte Niere vor allem in einer Substratmangel-, weniger in einer Sauerstoffmangelsituation steht.

In einigen Vorversuchen haben wir auch Mg im Cortexgewebe isolierter Nieren bestimmt, wobei die Mg-Konzentration gegenüber in vivo Nieren um fast die Hälfte reduziert war. Dies ist im Zusammenhang mit Befunden von ULDALL et al. (55) interessant, die Gewebeanalysen ganzer Nieren vorgenommen haben. Nach Hypoxie durch O_2-Reduktion in der Atemluft der Tiere wurde ein höherer H_2O- und Mg-Gehalt der Nieren er-

mittelt ohne Änderungen des Natriums und Kaliums. Dagegen führte eine Minderdurchblutung der Nieren infolge einer Entblutungshypotonie zu Elektrolytwerten, die unseren Ergebnissen an der isolierten Niere entsprechen: H_2O- und Na-Einlagerung ins Gewebe verbunden mit K- und Mg-Verlust. Dieses Elektrolytmuster sahen die Autoren allein nach längerer Hypotension (90 - 165 min), nicht aber nach kurzfristiger Minderdurchblutung (5 min), Acidose oder Hypoxie. Hierin sehen wir eine Bestätigung unserer Vermutung, daß die Na-Transporthemmung der isoliert perfundierten Niere nicht durch einen Sauerstoffmangel, sondern eher durch einen Substratmangel bedingt ist.

5.2.2.2. Perfusion mit Oxalacetat-Haemaccellösung

Nach Zusatz von Oxalacetat zum Perfusat wird vom Rindengewebe geringfügig weniger Flüssigkeit eingelagert als nach Standardperfusion. Dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant. Gleichzeitig erhöht sich die Kaliumkonzentration, während die Natriumkonzentration unverändert bleibt. Abb. 17 a und 17 b zeigen, daß in 1,19 g mit Haemaccelstandardlösung perfundierter Niere 53,3 µÄq Kalium enthalten ist, während nach Oxalacetat die Menge Kalium in 1,16 g 61,1 µÄq beträgt. Wie auch Tab. 6 belegt, werden durch Oxalacetat Werte für Kalium erreicht, wie wir sie für erythrozytenfreie in vivo-Nieren errechnet haben, die EZF einlagern. Hervorzuheben ist, daß im Gegensatz zur Haemaccelstandardperfusion die in Tab. 6 berechnete Na-Einlagerung (IX, X, XI) nicht mit einem äquivalenten K-Verlust (XX, XXI, XXII) einhergeht. Wir bemerken also, daß deutliche Zeichen einer energetischen Insuffizienz dieser Oxalacetatnieren fehlen. In diesem Zusammenhang ist interessant, daß Oxalacetat im Vergleich zur Standardperfusion zu einer besseren Nierenfunktion führt (50). Die GFR und die prozentuale Na-Resorption steigen an, gleichzeitig wird mehr Sauerstoff verbraucht als Ausdruck der gestei-

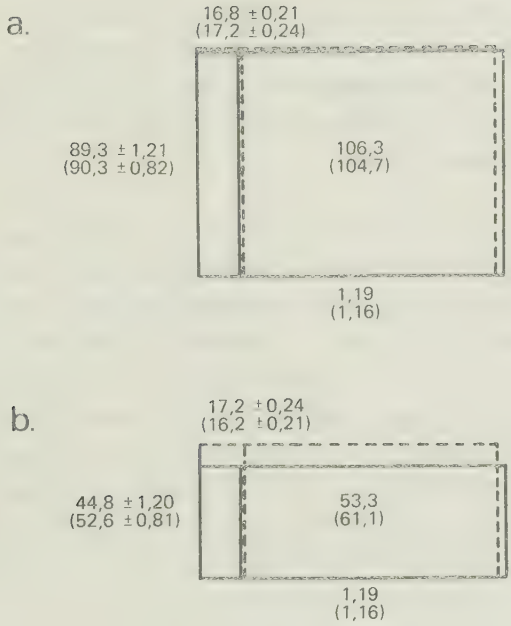

Abb. 17:

Gegenüberstellung der Elektrolytkonzentrationen und -mengen von mit Haemaccelstandardlösungen perfundierten Nieren und Nieren, die mit Oxalacetat - Haemaccellösung perfundiert wurden: Die Darstellung erfolgte wie in der Legende von Abb. 6 ausführlich beschrieben.

a) Natrium b) Kalium

Die Zahlen und die undurchbrochenen Linien zeigen die Ergebnisse der Haemaccelstandardperfusion, die in Klammern gesetzten Zahlen und die gestrichelten Linien die Ergebnisse der Oxalacetatperfusionen. Die Meßwerte der Elektrolyte und die Trockengewichte sind die in Tab. 3 aufgeführten Werte.

gerten Transportleistung der Tubuluszellen. Die K-Ausscheidung ist dabei deutlich verringert.

Oxalacetat ist im Citratzyklus limitierender Metabolit (27). Durch Angebot von Oxalacetat läßt sich mehr Substrat über Acetyl-CoA in den Krebszyklus einschleusen. Damit wird mehr H_2 der Atmungskette zur Verfügung gestellt, was zu einem verstärkten Energiegewinn führt.

Metabolituntersuchungen nach Oxalacetatperfusion bestätigen diesen Mechanismus. Der erhöhte O_2-Verbrauch bei gleichzeitig vermehrter CO_2-Bildung weist bei erhaltener Kopplung der oxydativen Phosphorylierung auf eine verstärkte mitochondriale Atmung hin. Das bedeutet, daß mehr Substrat durch den Krebszyklus geschleust wird. Ein Hinweis dafür ist auch der erhöhte Citratgehalt (50) und der höhere Gehalt an Phosphoenolpyruvat (23) dieser mit Oxalacetat perfundierten Nieren. Interessant ist eine geringe ATP-Konzentration (50). Die Ursache liegt sehr wahrscheinlich darin, daß ein Teil der Energie für die unter Oxalacetat verstärkt ablaufende Gluconeogenese verbraucht wird. Der andere Teil steht für den aktiven Na-Transport zur Verfügung, so daß der Elektrolytgradient an der Zellmembran weitgehend aufrechterhalten werden kann. Dies äußert sich in unseren Untersuchungen in einer Annäherung der Elektrolytzusammensetzung des perfundierten Nierengewebes an in vivo-Kontrollnieren.

5.2.2.3. Perfusion mit Succinat-Haemaccellösung

Nach Succinatperfusion kommt es zu einer im Vergleich zur Standardperfusion starken Natriumanreicherung im Gewebe bei gleichzeitigem erheblichen Kaliumverlust (s. Abb. 18 a und 18 b). Obgleich bei diesen Nieren die Flüssigkeitseinlagerung am größten ist, muß eine zusätzliche Funktionseinschränkung der Zellen ange-

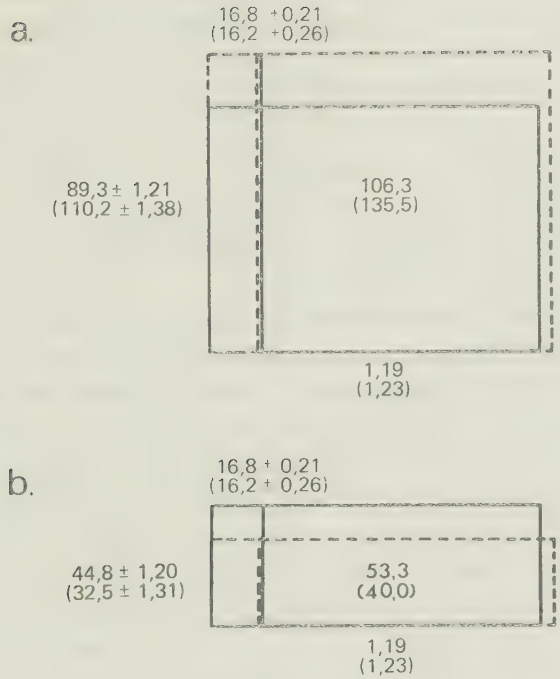

Abb. 18:

Gegenüberstellung der Elektrolytkonzentrationen und -mengen von mit Haemaccelstandardlösung perfundierten Nieren und Nieren, die mit Succinat - Haemaccellösung perfundiert wurden:
Die Darstellung erfolgte, wie in der Legende von Abb. 6 ausführlich beschrieben.

a) Natrium b) Kalium

Die Zahlen und die undurchbrochenen Linien zeigen die Ergebnisse der Haemaccelstandardperfusion die in Klammern gesetzten Zahlen und die gestrichelten Linien die Ergebnisse der Succinatperfusionen. Die Meßwerte der Elektrolyte und die Trockengewichte sind die in Tab. 3 aufgeführten Werte.

nommen werden. In der Tab. 6 ist erkennbar, daß in diesen Nieren der stärkste Ionenaustausch stattfindet. Allerdings überwiegt die Na-Zunahme im Gewebe (IX, X, XII) den Kaliumverlust (XX, XXI, XII). Diese Elektrolytveränderungen gehen einher mit einem Abfall der % Na-Resorption und einem Anstieg der K-Ausscheidung (50). Trotzdem ist der O_2-Verbrauch der mit Succinat perfundierten Nieren stärker erhöht als bei Oxalacetat, es wird aber wesentlich weniger CO_2 produziert (10). Der Grund dafür ist folgender:
Succinat wird im Mitochondrium vorrangig vor anderen, NAD-abhängigen, Substraten oxydiert (26). Da es seinen Wasserstoff direkt an ein strukturgebundenes Flavoproteid abgibt, sinkt der P/O Quotient auf mindestens 2. Es steht also weniger Energie für den aktiven Ionentransport zur Verfügung trotz erhöhten O_2-Verbrauchs. Dadurch kommt es zum Abbau des Elektrolytgradienten an der Zellmembran mit intrazellulärem Na- und extrazellulärem K-Anstieg. In den Gewebeschnitten zeigt sich ein starker K-Verlust. Aus den vorliegenden Experimenten läßt sich allerdings nicht sagen, ob der K-Verlust durch eine vermehrte Ausschwemmung an der tubulären oder an der peritubulären Seite bedingt ist.

5.2.2.4. Perfusion mit Mannit-Haemaccellösung

Durch unsere letzten Experimente wollten wir klären, ob Mannitzusatz zum Perfusat die tubuläre Transporthemmung der isolierten Niere verstärkt. Analog zu den Untersuchungen an der in vivo Niere hatten wir einen höheren H_2O-Gehalt im Vergleich zu der mit Standardlösung perfundierten Niere erwartet. Die Abbildungen 19 a und 19 b zeigen, daß es zu keiner weiteren Flüssigkeitseinlagerung kommt. Während die Na-Konzentration von 89,3 µÄq/ml bei Standardperfusion auf 102,7 µÄq/ml nach Mannit ansteigt und die Na-Menge ebenfalls erhöht ist, sind K-Konzentration und -Menge nahezu unverändert. Der Fluß der isoliert perfundierten Niere ist etwa doppelt

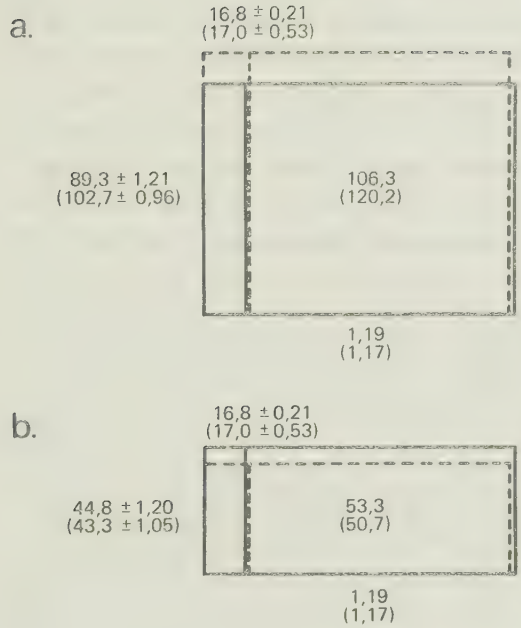

Abb. 19:

Gegenüberstellung der Elektrolytkonzentrationen und -mengen von mit Haemaccelstandardlösung perfundierten Nieren und Nieren, die mit Mannit-Haemaccellösung perfundiert wurden:
Die Darstellung erfolgte, wie in der Legende von Abb. 6 ausführlich beschrieben.

a) Natrium b) Kalium

Die Zahlen und die undurchbrochenen Linien zeigen die Ergebnisse der Haemaccelstandardperfusion, die in Klammern gesetzten Zahlen und die gestrichelten Linien die Ergebnisse der Mannitperfusion. Die Meßwerte der Elektrolyte und die Trockengewichte sind die in Tab. 3 aufgeführten Werte.

so groß wie die Durchblutung der in vivo Niere. Dadurch werden die im Mark angereicherten Substanzen ausgewaschen (54). Zusätzlich wird ein Auswascheffekt durch den infolge der Na-Transporthemmung vermehrten Anstrom von Primärharn in die Henle'sche Schleife erzielt. Wir haben also bei der isoliert perfundierten Niere ähnliche Verhältnisse vorliegen wie bei der in vivo Niere unter osmotischer Diurese. Hierbei wird die gesteigerte Urinproduktion durch die nicht in normalem Ausmaß resorbierbare Substanz Natrium erreicht, d.h. die mit Standardlösung perfundierte Niere befindet sich schon in einer osmotischen Diurese (= Natriurese). Dies wird auch deutlich in der Unfähigkeit, konzentrierten Urin auszuscheiden (49). Wird Mannit dem Perfusat zugesetzt, so wird freies Wasser, das sonst zusammen mit Na ausgeschieden werden würde, gebunden. Somit wird in der Mannitdiurese der isolierten Niere mehr Flüssigkeit als Natrium ausgeschieden. Wir messen daher in unseren Mannitperfusionen eine höhere Na-Konzentration als nach Perfusion mit Standardlösung. Inwieweit in der perfundierten Niere durch Mannit die Transportkapazität der Nierenzellen beeinflußt wird, und ob Änderungen zwischen intra- und extrazellulären Volumina eintreten, kann aus den Elektrolytmessungen nicht entschieden werden.

Da die normale Zellfunktion mit der Aufrechterhaltung der Elektrolytgradienten an der Zellmembran eng verbunden ist, konnten wir an der isoliert perfundierten Niere durch Angebot von Substraten, die oxydativen Prozesse beeinflussen, die Elektrolytzusammensetzung der Nierenrinde ändern.
Das Verfahren gibt also einen Anhalt für den Funktionszustand der isolierten Niere. Die Methode der Elektrolytbestimmung im Gewebe läßt sich ohne großen apparativen Aufwand durchführen und ist daher geeignet, im Rahmen der Weiterentwicklung der Nierenperfusion als orientierende Erfolgskontrolle zu dienen.

6.0 Zusammenfassung

Die herkömmliche Methode der Elektrolytbestimmungen in Gewebehomogenaten wurde anhand von Nierenrindengewebeproben mit der Gefrierschnittechnik verglichen. Dabei wiesen die Elektrolytkonzentrationen des feucht geschnittenen und mit TCE homogenisierten Gewebes einen größeren Streubereich auf als diejenigen, die wir aus gefrorenem Gewebe nach Ultraschallhomogenisation erhielten. Wir führten diese Streuungen auf Flüssigkeitsverluste zurück, und berechneten die % Anteile, die beim Schneiden des Gewebes und durch Verdampfen verursacht wurden.

Es wurden Na-, K-, Mg- und H_2O-Gehalt in Nierenrindenhomogenaten von intakten und adrenalektomierten Ratten ermittelt. Die Experimente wurden in Antidiurese und osmotischer Diurese nach H_2O- und NaCl-Gabe durchgeführt. Dabei fand sich nach NN-Entfernung bei beiden Diureseformen ein Abfall der Na-Konzentration und ein Anstieg der K-Konzentration, während sich Mg und das Trockengewicht nicht signifikant änderten. Ein Einfluß der Na-Konzentration in der Niere auf die Gewebeelektrolyte wurde nur unter osmotischer Diurese beobachtet.

Weiterhin haben wir Na-, K- und H_2O-Gehalt in Rindenhomogenaten der isoliert perfundierten Rattenniere gemessen und deren Abhängigkeit von Oxalacetat, Succinat und Mannit ermittelt. Dabei wurde bei allen perfundierten Nieren eine Flüssigkeitseinlagerung, eine Zunahme der Na- und Abnahme der K-Konzentration beobachtet. Die Na-Anreicherung und K-Verarmung im Gewebe ließen sich zum Teil dadurch erklären, daß die Nieren zellfrei perfundiert wurden, die Blutzellen mit ihrem intrazellulären Ionengehalt also fehlten. Außerdem war eine Einlagerung von EZF und ein Ionenaustausch zwischen IZR und EZR zu beobachten. Durch Perfusion mit einer Oxalacetat-Haemaccellösung konnte der K-Gehalt des Cortexgewebes erhöht, durch Perfusion mit

einer Succinat-Haemaccellösung vermindert werden. Der Na-Gehalt der Nierenrinde wurde durch Perfusion mit Mannit und noch stärker mit Succinatlösung vermehrt. Zeichen einer energetischen Insuffizienz isolierter Nieren waren am wenigsten unter Oxalacetatperfusion, am stärksten unter Succinatperfusion vorhanden.

7.0 Übersichtstabellen

Tabelle I : Trockengewicht (in % Feuchtgewicht) der Nierenrinde intakter und adrenalektomierter Ratten in Antidiurese

	Kontrolltiere		Adrenalektomierte Tiere	
	+ H_2O	+ NaCl	+ H_2O	+ NaCl
n	29	23	34	32
x	25,1	22,3	25,8	27,0
	26,7	28,5	25,7	26,0
	25,7	29,5	26,2	27,0
	26,6	27,3	27,1	27,0
	25,9	25,3	27,8	25,8
	27,5	23,3	27,2	26,6
	28,7	19,8	27,6	27,8
	27,1	19,7	28,0	28,6
	29,6	21,0	30,0	23,3
	28,3	19,1	30,3	23,4
	30,3	25,7	28,1	22,3
	30,5	26,8	28,2	23,9
	24,9	26,7	24,3	25,5
	25,1	27,8	23,3	24,0
	23,5	26,9	25,4	21,8
	26,8	28,4	23,8	24,0
	23,9	28,6	19,4	22,1
	27,1	25,0	25,4	23,1
	26,2	24,8	25,7	21,4
	26,4	25,9	26,5	25,2
	28,5	25,9	24,8	23,5
	24,5	26,6	24,3	21,6
	24,0	23,3	22,3	24,7
	25,3		18,0	22,5
	21,2		22,9	21,6
	24,6		20,1	23,9
	22,4		21,4	22,7
	24,6		21,8	23,2
	22,0		23,6	23,4
			23,4	25,4
			23,4	25,7
			23,3	24,9
			22,2	
			24,1	
$\bar{x}$	25,96	25,13	24,74	24,34
S.D.	2,33	3,03	2,87	1,95
S.E.	0,43	0,63	0,49	0,34
Summe $(x - \bar{x})^2$	153,11	203,26	272,49	119,22

Tabelle II : Trockengewicht (in % Feuchtgewicht) der Nierenrinde intakter und adrenalektomierter Ratten in osmotischer Diurese

	Kontrolltiere		Adrenalektomierte Tiere	
	+ H_2O	+ NaCl	+ H_2O	+ NaCl
n	26	19	33	19
x	26,6	22,6	24,6	
	21,05	22,6	22,3	23,3
	26,1	22,5	25,7	23,3
	25,1	22,4	24,1	22,9
	26,35	22,8	25,4	26,6
	18,9	18,1	20,9	26,4
	19,5	14,1	19,0	17,6
	20,8	18,3	16,4	16,85
	21,6	15,7	18,3	17,7
	21,2	18,9	20,8	17,1
	20,3	19,9	19,3	18,0
	17,3	13,5	16,0	25 0
	18,0	22,7	19,2	24,7
	17,3	18,0	18,05	21,3
	15,05	17,45	16,2	18,0
	17,0	17,0	16,3	17,25
	16,3	16,35	15,95	18,1
	20,35	15,75	22,6	17,75
	23,4	17,35	18,6	18,4
	21,8		22,5	17,2
	20,05		23,15	
	19,4		22,2	
	18,0		22,1	
	19,6		23,4	
	20,0		24,2	
	19,7		21,4	
			22,0	
			16,7	
			16,35	
			17,7	
			17,5	
			16,1	
			18,2	
$\bar{x}$	20,42	18,73	20,09	20,39
S.D.	3,09	3,08	3,12	3,53
S.E.	0,61	0,71	0,54	0,81
Summe $(x - \bar{x})^2$	239,15	171,52	311,86	311,86

Tabelle III : Magnesiumkonzentration (mÄq/kg F.G.) in der Nierenrinde intakter und adrenalektomierter Ratten in Antidiurese.

	Kontrolltiere		Adrenalektomierte Tiere	
	+ H_2O	+ NaCl	+ H_2O	+ NaCl
n	24	21	24	31
x	20,15	14,56		20,22
	16,81	19,56	18,86	19,46
	16,89	18,09	20,58	16,87
	19,27	15,5	21,11	25,29
	19,25	18,48	19,31	16,4
	19,41	16,29	19,0	18,1
	18,36	17,41	19,45	18,84
	18,8	17,53	19,83	15,43
	20,23	20,91	22,49	19,28
	16,64	19,62	22,14	20,46
	18,12	19,95	16,56	21,3
	17,6	20,22	22,0	19,56
	17,87	20,17	21,26	20,76
	17,83	19,72	17,03	21,06
	16,88	19,06	13,12	22,16
	16,99	18,06	13,99	21,8
	17,28	19,01	17,68	20,58
	20,51	19,14	17,94	21,84
	17,92	19,75	21,55	23,14
	21,84	17,65	19,79	22,27
	21,61	19,06	18,9	18,99
	19,26		21,05	18,06
	21,44		21,7	17,88
	22,32		22,39	18,62
			23,41	16,38
				20,13
				20,26
				20,69
				17,71
				16,05
				18,24
$\bar{x}$	18,88	18,55	19,63	19,60
S.D.	1,74	1,62	2,60	2,24
S.E.	0,36	0,35	0,53	0,40
Summe $(x - \bar{x})^2$	70,24	52,84	156,41	151,76

Tabelle IV : Magnesiumkonzentration (mÄq/kg F.G.) in der Nierenrinde intakter und adrenalektomierter Ratten in osmotischer Diurese

	Kontrolltiere		Adrenalektomierte Tiere	
	+ H_2O	+ NaCl	+ H_2O	+ NaCl
n	29	22	36	27
x			17,19	
	17,28		14,27	15,55
	16,01	13,18	17,58	13,87
	17,08	11,68	15,41	14,71
	18,35	11,59	16,19	12,86
	17,09	11,24	14,45	13,21
	17,17	15,31	15,2	14,84
	17,22	15,4	15,67	13,13
	17,86	16,62	15,73	14,14
	17,51	15,35	14,12	13,45
	17,71	15,65	15,16	15,69
	17,95	15,9	15,62	15,82
	16,71	12,75	15,71	18,18
	16,32	16,5	15,11	16,41
	16,8	15,96	13,76	22,56
	16,4	15,06	13,9	18,08
	19,02	15,35	17,35	13,98
	17,88	15,36	16,1	13,98
	17,99	19,94	16,46	15,81
	14,97	18,04	16,47	13,15
	15,14	17,81	15,66	14,3
	17,06	17,51	15,55	13,46
	13,56	18,12	15,25	16,3
	14,04	15,72	14,32	14,12
	13,18		15,24	14,37
	14,85		14,07	14,55
	17,15		13,05	13,95
	16,79		12,81	14,29
	15,47		12,99	
	18,19		12,71	
			19,27	
			12,85	
			14,69	
			16,45	
			21,52	
			11,68	
$\bar{x}$	16,64	15,45	15,26	14,99
S.D.	1,45	2,24	1,90	2,05
S.E.	0,32	0,48	0,32	0,39
Summe $(x - \bar{x})^2$	59,65	106,26	126,36	109,69

Tabelle V : Natriumkonzentration (mÄq/kg F.G.) in der Nierenrinde intakter und adrenalektomierter Ratten in Antidiurese:

	Kontrolltiere		Adrenalektomierte Tiere	
	+ H_2O	+ NaCl	+ H_2O	+ NaCl
n	24	24	25	35
x				59,55
				63,31
	80,81	69,09	55,21	60,17
	68,38	63,94	59,22	65,57
	82,83	68,34	60,69	66,09
	82,77	69,05	61,82	66,52
	79,53	72,21	57,35	82,5
	79,18	85,63	56,38	71,72
	67,84	82,72	76,01	59,04
	65,74	74,7	82,04	60,03
	61,16	69,71	78,19	66,02
	77,28	73,75	71,43	66,67
	77,45	71,45	76,92	72,27
	83,23	82,43	55,44	76,1
	77,33	80,07	58,06	60,56
	64,49	71,01	61,58	58,2
	58,26	66,67	58,73	60,21
	66,67	68,49	58,29	60,99
	69,92	73,73	60,0	62,81
	61,34	73,76	60,02	63,64
	63,37	69,81	69,58	55,11
	62,58	75,4	60,16	54,84
	53,51	79,96	63,69	53,78
	62,16	52,81	61,99	60,17
	67,08	49,12	67,73	60,23
	62,07	50,45	67,99	58,28
			70,02	54,19
				49,47
				52,57
				56,58
				57,94
				61,79
				57,96
				51,27
				57,65
$\bar{x}$	69,79	70,59	64,34	61,25
S.D.	8,88	9,37	7,72	6,91
S.E.	1,81	1,91	1,54	1,17
Summe $(x - \bar{x})^2$	1817,39	2022,33	1431,00	1624,75

Tabelle VI: Natriumkonzentration (mÄq/kg F.G.) in der Nierenrinde intakter und adrenalektomierter Ratten in osmotischer Diurese:

	Kontrolltiere		Adrenalektomierte Tiere		
	$+H_2O$	+ NaCl	$+H_2O$	+ NaCl	
n	29	24	36	26	20
x	54,97	64,04	42,68	45,71	45,71
	60,13	58,56	43,83	49,27	49,27
	62,19	57,74	43,62	54,76	54,76
	59,06	75,00	46,73	60,35	60,35
	63,89	62,50	47,23	54,09	54,09
	62,31	67,64	51,03	45,62	45,62
	53,09	49,16	39,44	48,27	48,27
	55,15	48,65	40,39	46,57	46,57
	52,44	49,76	42,67	47,06	47,06
	54,31	50,52	45,10	46,71	46,71
	55,88	51,80	45,05	54,51	47,11
	55,06	51,50	44,79	48,83	54,51
	61,48	48,75	59,63	47,11	48,83
	57,11	51,84	49,06	69,34	47,11
	63,55	63,06	56,88	69,89	39,91
	59,85	64,83	60,00	75,41	39,72
	59,96	62,63	56,69	66,80	37,36
	60,41	67,40	51,52	70,35	40,54
	56,84	51,75	61,95	71,05	39,53
	65,62	48,97	46,08	39,91	40,00
	55,05	51,43	44,06	39,72	
	68,62	53,85	45,56	37,36	
	56,97	60,00	46,61	40,54	
	61,48	57,91	43,50	39,53	
	53,37		43,83	40,00	
	53,97		57,09	47,11	
	61,66		52,05		
	66,93		65,01		
	63,34		61,33		
			64,24		
			38,41		
			43,75		
			40,82		
			44,41		
			42,39		
			44,06		
$\bar{x}$	59,12	57,05	48,65	52,14	46,65
S.D.	4,42	7,45	7,56	11,59	6,06
S.E.	0,82	1,52	1,26	2,27	1,36
Summe $(x - \bar{x})^2$	548,79	1278,14	2005,55	3358,26	699,31

Tabelle VII: Kaliumkonzentration (mÄq/kg F.G.) in der Nierenrinde intakter und adrenalektomierter Ratten in Antidiurese

	Kontrolltiere		Adrenalektomierte Tiere	
	+ H_2O	+ NaCl	+ H_2O	+ NaCl
n	24	24	25	35
x	92,67	84,69	95,86	79,77
	82,62	84,63	105,82	82,65
	94,22	80,04	106,20	102,35
	92,97	84,39	111,71	87,82
	87,13	73,44	99,13	66,09
	86,84	76,65	96,65	68,70
	89,47	80,86	86,45	81,38
	92,27	70,23	92,37	74,81
	91,43	91,37	91,19	103,40
	81,90	95,00	87,43	103,28
	87,14	102,64	88,39	104,71
	85,03	109,13	86,01	109,15
	91,33	87,23	90,85	106,61
	85,51	85,53	97,59	110,79
	81,19	81,82	95,81	100,60
	86,27	88,72	92,70	96,18
	88,39	92,72	90,77	108,27
	86,60	88,54	91,56	103,85
	91,09	85,93	91,74	102,09
	91,31	92,17	87,57	103,67
	83,91	93,26	84,93	88,98
	83,05	95,56	81,87	89,03
	97,30	89,92	88,66	89,39
	104,28	95,48	97,37	92,41
			88,60	92,91
				99,34
				98,06
				92,95
				96,57
				98,68
				103,85
				81,30
				83,46
				88,61
				91,76
$\bar{x}$	88,91	87,91	93,08	93,81
S.D.	5,34	8,75	7,10	11,38
S.E.	1,09	1,79	1,42	1,92
Summe $(x - \bar{x})^2$	657,34	1761,26	1213,24	4404,97

Tabelle VIII: Kaliumkonzentration (mÄq/kg F.G.) in der Nierenrinde intakter und adrenalektomierter Ratten in osmotischer Diurese:

	Kontrolltiere		Adrenalektomierte Tiere	
	+ H_2O	+ NaCl	+ H_2O	+ NaCl
n	29	24	36	26
x	71,20	55,63	85,83	67,87
	78,48	60,03	86,71	71,78
	81,26	59,05	84,45	72,62
	76,26	56,82	91,52	88,94
	69,09	59,09	85,90	74,21
	70,67	60,09	84,03	67,87
	60,31	70,93	69,60	69,83
	61,97	72,23	72,21	65,32
	62,12	63,51	70,67	71,57
	59,03	65,62	69,12	71,12
	63,72	67,57	71,98	72,73
	60,76	70,50	71,35	75,03
	61,05	62,50	75,11	71,53
	62,99	66,89	77,10	72,11
	61,93	72,71	77,98	72,59
	63,16	68,43	77,97	72,04
	68,69	68,69	71,43	74,38
	68,22	61,33	74,06	64,75
	70,55	63,17	80,09	69,19
	73,46	64,94	72,56	65,75
	68,39	65,71	73,39	74,83
	71,52	66,86	71,61	75,03
	70,45	68,75	79,33	70,69
	73,33	75,49	82,46	71,73
	67,59		82,57	75,58
	76,57		65,96	77,17
	75,18		69,65	
	77,39		70,75	
	80,06		62,77	
			68,87	
			71,61	
			70,54	
			68,37	
			66,61	
			76,09	
			68,96	
$\bar{x}$	69,15	65,27	74,97	72,16
S.D.	6,52	5,26	6,84	4,68
S.E.	1,21	1,07	1,14	0,92
Summe $(x - \bar{x})^2$	1191,37	638,40	1641,92	549,88

Tabelle IX: Trockengewicht (in % F.G.) der Nierenrinde von in vivo Nieren und isoliert perfundierten Nieren:

	in vivo	in vitro Perfusion			
	Kontrollen	Standard	Oxalacetat	Succinat	Mannit
n	20	14	11	20	18
x	17,50	17,90	15,90	16,17	17,69
	18,40	17,60	16,60	16,30	16,38
	19,30	14,80	16,70	14,68	17,65
	20,60	17,20	17,00	15,30	18,05
	20.40	16,20	17,50	16,11	19,82
	19,10	17,00	17,20	16,14	19,15
	20,90	17,40	18,80	15,95	20,09
	20,80	17,10	16,60	16,25	18,23
	20,10	16,80	17,90	17,32	19,56
	20,00	15,80	18,00	17,63	20,86
	20,20	17,00	17,10	16,28	16,79
	22.00	17,20		16,50	14,70
	21,10	16,80		15,07	15,07
	18,50	17,20		15,40	15,13
	18,90			15,84	14,93
	18,80			16,95	14,20
	21,10			15,60	14,17
	19,00			14,10	14,43
	19,90			18,70	
	23,50			18,70	
$\bar{x}$	20,00	16,85	17,20	16,24	17,05
S.D.	1,38	0,78	0,80	1,17	2,25
S.E.	0,31	0,21	0,24	0,26	0,53
Summe $(x-\bar{x})^2$	36,71	8,18	6,49	26,38	86,65

Tabelle X: Natriumkonzentration (mÄq/kg F.G.) der Nierenrinde von in vivo Nieren und isoliert perfundierten Nieren:

	in vivo Kontrollen	Standard	Oxalacetat	Succinat	Mannit
n	22	16	19	18	20
x	55,55	90,91	89,20	109,02	99,35
	59,50	85,66	95,70	118,04	112,97
	59,77	87,04	89,30	123,53	107,17
	63,77	84,74	90,50	105,44	97,44
	54,79	96,29	91,20	118,94	106,35
	57,54	79,28	90,90	113,87	106,94
	60,14	87,56	91,60	109,83	99,88
	56,82	93,96	93,50	113,86	106,10
	57,24	88,89	97,03	107,33	99,42
	59,72	89,12	89,86	108,99	105,54
	64,36	92,31	90,63	103,72	105,43
	65,02	97,06	89,86	113,85	96,91
	59,37	95,40	89,34	107,29	97,47
	74,85	90,34	81,86	108,16	101,68
	64,76	86,36	86,54	110,69	99,06
	65,58	84,47	87,08	102,08	103,60
	63,71		89,30	104,39	98,32
	59,97		86,46	104,04	100,71
	50,22		95,61		104,98
	71,00				105,26
	63,18				
	63,77				
$\bar{x}$	61,39	89,33	90,28	110,17	102,72
S.D.	5,41	4,86	3,58	5,85	4,30
S.E.	1,15	1,21	0,82	1,38	0,96
Summe $(x - \bar{x})^2$	616,27	355,40	230,85	582,02	352,23

Tabelle XI: Kaliumkonzentration (mÄq/kg F.G.) der Nierenrinde von in vivo Nieren und isoliert perfundierten Nieren

	in vivo	in vitro Perfusion			
	Kontrollen	Standard	Oxalacetat	Succinat	Mannit
n	22	16	19	18	20
x	75,94	48,63	51,40	30,66	42,98
	69,10	39,11	53,20	30,62	41,00
	68,96	46,42	50,40	31,76	43,50
	66,54	45,79	54,90	25,20	44,09
	71,56	56,39	54,10	27,27	49,60
	69,44	48,65	52,00	31,39	50,43
	67,39	47,46	54,70	33,33	51,46
	60,45	48,28	54,90	28,29	50,24
	70,68	46,76	53,77	28,69	38,01
	73,51	46,83	56,17	31,33	41,67
	63,86	39,74	51,79	29,98	42,78
	68,92	39,92	53,27	34,39	43,98
	70,70	41,41	54,92	28,34	41,34
	72,53	40,62	55,95	31,96	45,39
	72,38	42,55	59,61	31,32	45,97
	67,68	38,83	45,02	44,03	42,92
	65,67		48,50	43,86	40,29
	65,97		46,87	42,93	34,64
	64,73		48,72		34,75
	63,18				41,12
	65,00				
	63,77				
$\bar{x}$	68,08	44,83	52,64	32,51	43,30
S.D.	3,85	4,80	3,55	5,54	4,70
S.E.	0,82	1,20	0,81	1,31	1,05
Summe $(x - \bar{x})^2$	312,19	345,93	227,28	523,25	420,03

8.0 Literatur

1. AUDITORE, G.V.
   HOLLAND, W.C.
   Factors affecting the intracellular distribution of potassium in liver, kidney, and brain.
   Am.J.Physiol. 187:57 (1956)

2. BAHLMANN, J.
   GIEBISCH, G.
   OCHWANDT, B.
   SCHOEPPE, W.
   Micropuncture study of isolated perfused rat kidney.
   Am.J.Physiol. 212:77 (1967)

3. CAMMANN, K.
   Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden
   In: Anleitungen für die chemische Laboratoriumspraxis,Bd. XIII
   Her.geb. F.L. Boschke
   Springer Verlag 1973

4. CORTNEY, M.A.
   Renal tubular transfer of water and electrolytes in adrenalectomized rats.
   Am.J.Physiol. 216:589 (1969)

5. CRABBE, J.
   NICHOLS, G.
   Effects of adrenalectomy, aldosterone and dehydration on electrolyte metabolism of rat cortex slices.
   Am.J.Physiol. 199:871 (1960)

6. CRABBE, J.
   The Na-retaining action of aldosterone.
   Ed. Arscia S.A., Presses Acad. Europ. S.C. Bruxelles (1963)

7. DULCE, H.-J.
   GÜNTHER, TH.
   SCHÜTTE, E.
   Studien über den Wasser- und Salzhaushalt.
   Clin.chim. Acta 3:368 (1958)

8. DULCE, H.-J.
   GÜNTHER, TH.
   Steuerung des cellulären Elektrolyt- und Wassergehaltes durch Hormone.
   Naun.-Schm.Arch.exp.Path.Pharm. 238:368 (1960)

9. EIGLER, F.W.
   Pathophysiologie der Niere im Rahmen chirurgischer Erkrankungen.
   F.Enke Verlag Stuttgart 1968

10. ELLIOT, K.A.C.
SCHROEDER, E.F.
The metabolism of lactic and pyruvic acid in normal and tumor tissue. I. Methods and results with kidney cortex.
Bioch.J. 28:1920 (1934)

11. FELDMAN, D.
FUNDER, J.W.
EDELMAN, J.S.
Subcellular mechanisms in the action of adrenal steroids.
Am.J.Phys. 53:545 (1972)

12. GÄRTNER, K.
Das Volumen der interstitiellen Flüssigkeit der Niere bei Änderung ihres hämodynamischen Widerstandes. Untersuchungen am Kaninchen.
Pfl.Arch.ges.Physiol. 292:1 (1966)

13. GAUNT, R.
CHART, J.J.
Mineralocorticoid action of adrenal hormones.
In: Handb.exp.Pharm. Erg.Werk Bd. 14, Teil 1 (1962)

14. GIEBISCH, G.
Measurements of electrical potential differences on single nephrons of the perfused necturus kidney.
J. Gen.Physiol. 44:659 (1961)

15. GOTSHALL, R.W.
LEBRIE, S.J.
Water and electrolyte distribution in adrenalectomized nephrectomized rats.
Am.J.Phys. 223:198 (1972)

16. HARSING, L.
BARTA, J.
HARZA, T.
PELLEY, K.
Sodium and potassium concentration and blood flow in the renal cortex and medulla during different diuretic responses.
Acta Physiologica Academiae Scientiarum Hungaricae 30:215 (1966)

17. HELLER, J.
TATA, P.S.
Effect of some metabolic inhibitors on the electrolyte and urea concentration gradients in rat kidney.
Physiol. Bohemoslov. 16:428 (1967)

18. HIERHOLZER, K.
Analyse der Natrium- Transportstörung in der Niere adrenalektomierter Ratten. Untersuchungen am Einzelnephron.
Habil.Schrift Berlin 1964

19. HIERHOLZER, K.
WIEDERHOLT, M.
HOLZGREVE, H.
GIEBISCH, G.
KLOSE, R.M.
WINDHAGER, E.E.
Micropuncture study of renal transtubular concentration gradients of sodium and potassium in adrenalectomized rats.
Pfl.Arch.ges.Physiol. 285:193 (1965)

20. HIERHOLZER, K.
WIEDERHOLT, M.
STOLTE, H.
Hemmung der Natriumresorption im proximalen und distalen Konvolut adrenalektomierter Ratten.
Pfl.Arch.ges.Physiol. 291:43(1966)

21. KESSLER, E.
ALLEN, R.L.
KIRMAN, D.
STRAUSS, H.
Effect of aldosterone and cortisol on sodium and water content of the rat kidney.
Am.J.Physiol. 207:109 (1964)

22. KHURI, R.N.
AGULIAN, S.K.
KALLOGHLIAN, A.
Intracellular potassium in cells of the distal tubule.
Pfl.Arch.ges.Physiol. 335:297 (1972)

23. KINNE, R.
GYÖRY, A.Z.
Energy source for transepithelial sodium transport in rat renal proximal tubules.
Pfl.Arch.ges.Physiol. 327:234 (1971)

24. KLEINZELLER, A.
KNOTKOVA, A.
The steady state efflux of Na^+, K^+ and Cl^- from kidney cortex slices.
Physiol.Bohemoslov. 16:214,(1967)

25. KRAMER, K.
ULLRICH, K.
O_2-Sättigung und Hb-Gehalt des Capillarblutes der Nierenrinde.
Pfl.Arch.ges.Physiol.267:251 (1958)

26. KREBS, H.A.
Redoxstate of NAD.
Advances in Enzymeregulation. 5:409 (1967)

27. KREBS, H.A.
EGGLESTON, L.V.
Biological synthesis of oxaloacetic acid from pyruvic acid and carbon dioxide.
Biochem.J. 34:1383 (1940)

28. LEICHTWEISS, H.-P.
LÜBBERS, D.W.
WEISS, CH.
BAUMGARTL, H.
RESCHKE, W.
The Oxygen supply of the rat kidney: measurements of intra-renal pO_2.
Pfl.Arch.ges.Physiol.309:328(1969)

29. LOHFERT,H.
Untersuchungen am zellfrei perfundierten Nierenpräparat der Ratte unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses der Natriumkonzentration im Perfusionsmedium.
Inaug. Dissert. Berlin 1972

30. LOSERT, W.
SENFT, C.
SENFT, G.
Extrarenale Wirkungen des Aldosterons und der Spiralactone.
Naun.-Schm.Arch.exp.Path. Pharm. 248:450 (1964)

31. MACKNIGHT, A.D.C.
Water and electrolyte contents of rat renal cortical slices incubated in potassium- free media containing ouabain.
Biochim.Biophys.Acta 150:263(1968)

32. MALVIN, R.L.
WILDE, W.S.
Washout of renal countercurrent Na gradient by osmotic diuresis.
Am.J.Physiol. 197:177 (1959)

33. MARIANI, T.
MALVIN, R.L.
Alteration in renal Na and H_2O content following adrenalectomy.
Proc.Soc.Exp.Biol. and Med. 119:881 (1965)

34. MESSMER, K.
ROSENTHAL, L.
Isolierte Perfusion der Hundeniere in situ vor und während Mannitdiurese.
Z.ges.exp.Med. 141:281 (1966)

35. MUDGE, G.H.
Electrolyte metabolism of rabbit kidney slices: studies with radioactive potassium and sodium.
Am.J.Physiol. 173:511 (1953)

36. NISHITSUTSUJI-UWO, J.M.
ROSS, B.D.
KREBS, H.A.
Metabolic activities of the isolated perfused rat kidney.
Biochem.J. 103:852 (1967)

37. NOCENTI, M.R.
CIZEK, L.J.
Electrolyte-fluid exchanges and renal tissue composition in vasopressin treated polyuric-polydipsic rabbits.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 124:767 (1967)

38. ORANGE, M.
RHEIN, H.C.
Microestimation of Mg in body fluids.
J.Biol.Chem. 189:379 (1951)

39. PELLETIER, M.
LUDENS, J.H.
FANESTIL, D.D.
The role of aldosterone in active sodium transport.
Arch.Int.Med. 129:248 (1972)

40. PETERS, G.
Die Verteilung von Wasser und Elektrolyten im Organismus normaler und adrenalektomierter, unbehandelter oder mit Nebennierenrindenhormonen behandelter Ratten und ihre Beeinflussung durch große orale Wassergaben.
Naun.-Schm.Arch.exp.Path.Pharm. 237:119 (1959).

41. PETERS, G.
Nebennierenrindeninkretion und Wasser-Elektrolythaushalt.
VEB Georg Thieme Leipzig 1960

42. PLATTS, M.M.
The action of aldosterone and ouabain on the sodium and potassium content of the cortex and papilla of rat kidney in vitro.
Clin.Sci. 26:405 (1964)

43. RABITO, C.
FASCICOLO, J.C.
Effect of aldosterone on sodium and potassium content of renal tissue.
Acta Physiol. Latinoam. 22:146 (1972)

44. REINHARDT, H.W. — Die Rolle des Harnstoffs im Konzentrierungsprozess der Niere. Habil.Schrift München 1969

45. ROBINSON, J.R. — Exchanges of water and ions by kidney slices determined by a balance method. J. Physiol. 158:449 (1961)

46. ROBINSON, J.R. — Oxygen consumptiom and electrolyte composition of kidney slices between 20 and O°C. J. Physiol. 177:112 (1965)

47. ROLLHÄUSER, H. KRIZ, W. HEINKE, W. — Das Gefäßsystem der Rattenniere. Zeitschrift für Zellforschung 64:381 (1964)

48. ROSS, B.D. EPSTEIN, F.H. LEAF, A. — Sodium reabsorption in the perfused rat kidney. AmJ.Physiol. 225:1165 (1973)

49. SCHUREK, H.J. LOHFERT, H. HIERHOLZER, K. — Na-Reabsorption in der isoliert perfundierten Rattenniere (Abhängigkeit von Substratangebot und Na-Load). Pfl.Arch.ges. Physiol. 319 R 85 (1970)

50. SCHUREK, H.J. BRECHT, J.P. BRANDT, P. LANGE, K. KOLBE, H. KELLER, K. — Substrate action on transport and metabolism of the isolated perfused rat kidney. In: Symp.Biochem.aspects of kidney function. Goldmann Verlag Salzburg 1971 Herausgeb. M. Hohenegger

51. SCHUREK, H.J. BRECHT, J.P. LOHFERT, H. HIERHOLZER, K. — The basic requirements for the function of the isolated cell free perfused rat kidney. Pfl.Arch.ges.Physiol. 1974 in Vorbereitung

52. SHARP, G.W.G.
LEAF, A.
Mechanism of action of aldosterone.
Physiol.Rev. 46:593 (1966)

53. SIGLER, M.H.
FORREST, J.N.
ELKINGTON, J.R.
Renal concentration ability in the adrenalectomized rat.
Clin.Sci. 28:29 (1965)

54. THURAU, K.
DEETJEN, P.
KRAMER, K.
Hämodynamik des Nierenmarks II. Wechselbeziehung zwischen vaskulärem und tubulärem Gegenstromsystem bei arteriellen Drucksteigerungen, Wasserdiurese und osmotischer Diurese.
Pfl. Arch. ges.Physiol. 270:270 (1960)

55. ULDALL, P.R.
SCHORR, W.J.
OSMUN, R.J.
OGDEN, D.A.
HOLMES, J.H.
Effects of hypotension, and acidosis on the electrolyte composition of rat kidneys.
Nephron 7:1 (1970)

56. WEISS, Ch.
PASSOW, H.
ROTHSTEIN, A.
Autoregulation of flow in isolated rat kidney in the absence of red cells.
Am.J.Physiol. 196:1115 (1959)

57. WHITTEMBURY, G.
Sodium extrusion and potassium uptake in guinea pig kidney.
J.Gen.Physiol. 48:699 (1965)

58. WHITTEMBURY, G.
FISHMAN, J.
Relation between cell Na extrusion and transtubular absorption in the perfused toad kidney: the effect of K, ouabain, and ethacrynic acid.
Pfl.Arch.ges.Physiol.307:138 (1969)

59. WIEDERHOLT, M.
STOLTE, H.
BRECHT, J.P.
HIERHOLZER, K.
Mikropunktionsuntersuchungen über den Einfluß von Aldosteron, Cortison und Dexamethason auf die renale Natriumresorption adrenalektomierter Ratten.
Pfl.Arch.ges.Physiol. 292:316 (1966)

60. WIEDERHOLT, M.
AGULIAN, S.K.
KHURI, R.N.

Intracellular potassium in the distal tubule of the adrenalectomized and aldosterone treated rat.

Pfl.Arch.ges.Physiol. 347:117 (1974)

61. WILLIS, J.S.

Ouabain inhibition of ion transport and respiration in renal cortical slices of ground squirrels and hamsters.

Biochim.Biophys.Acta 163:506 (1968)

Den Anstoß für diese Arbeit erhielt ich von Prof. Dr. K. Hierholzer. Ihm danke ich für seine Anleitung und für die kritische Durchsicht des Manuskriptes.

Bei Herrn Dr. H.J. Schurek und Herrn Dr.P. Brecht möchte ich mich besonders für die Durchführung der Nierenperfusionen bedanken, die Voraussetzung für einen Teil der Untersuchungen waren.

Lebenslauf

Am 25. 6. 1945 wurde ich als dritte Tochter des Rechtsanwaltes Dr.Dr. Helmut Brandt und seiner Ehefrau Brigitte in Großmöllen, Kreis Pyritz, geboren.

Von 1950 bis 1954 besuchte ich die Grundschule, von 1954 bis zum Abitur 1964 das Erich-Hoepner-Gymnasium in Berlin-Charlottenburg.

Im S.S. 1964 begann ich, an der FU Berlin Medizin zu studieren, legte 1965 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und 1967 die ärztliche Vorprüfung ab. Das medizinische Staatsexamen habe ich im Januar 1971 abgeschlossen.

Als Medizinalassistent arbeitete ich im Institut für Klinische Physiologie im Klinikum Steglitz, auf der Internen Abteilung des Klinikums Westend und auf der Chirurgischen Abteilung des Städt. Krankenhauses Spandau-Nord.

Nach meiner Approbation im März 1972 blieb ich an der Chirurgischen Abteilung bis zum November 1972. Seitdem bin ich als Assistenzärztin auf der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses Spandau-Nord beschäftigt.

B. Ladewig-Dissertationsdruck - 1 Berlin 12 - Pestalozzistraße 106
Tel.: 3 12 88 85 - 3 13 81 98